

CORSO DI LAUREA IN INFERMIERE

PROGRAMMA DEL CORSO DI MICROBIOLOGIA (1° ANNO – 2° SEMESTRE)

Prof. ssa Francesca Pica.

Il mondo dei microrganismi

Meccanismi di patogenicità microbica

Interazione ospite-parassita

Generalità sulla struttura e replicazione dei batteri.

I principali batteri patogeni per l'uomo

- Cocchi Gram positivi e Gram negativi
- Bacilli Gram positivi aerobi e anaerobi
- Bacilli Gram negativi aerobi e anaerobi
- Micobatteri
- Micoplasmi
- Clamidio
- Rickettsie
- Spirochete

Protozoi

Generalità sulla struttura e replicazione dei virus.

I principali virus patogeni per l'uomo

- Infezioni virali del tratto respiratorio
- Infezioni virali del tratto gastrointestinale
- Infezioni virali trasmesse con il sangue
- Infezioni virali a trasmissione verticale

Generalità sulla struttura e replicazione dei funghi

Classificazione dei funghi e delle micosi umane

Monografie: La sicurezza del personale di assistenza

Disinfezione e Sterilizzazione

Antibiotici ed antivirali (meccanismi di resistenza ai farmaci)

Vaccinazioni obbligatorie e facoltative

Possiamo distinguere vari tipi di microrganismi:

Saprofiti o Commensali

microrganismi che vivono e si moltiplicano a contatto con l'ospite senza arrecare alcun danno e talora con un risultato di mutuo beneficio.

Patogeni

microrganismi che tendono a provocare malattia.

Opportunisti

microrganismi normalmente innocui, ma in grado di provocare malattie di gravità variabile a seguito di una caduta delle difese dell'organismo.

L'incontro di un microrganismo con un organismo superiore può dare:

contaminazione presenza occasionale e transitoria di un microrganismo sulla cute o mucose (il contaminante non si moltiplica o lo fa in modo limitato e non riesce a impiantarsi stabilmente nella sede colpita);

colonizzazione impianto di un germe su cute o più frequentemente mucose, con attiva moltiplicazione, in presenza o meno di conseguenze apprezzabili;

infezione attiva moltiplicazione di microrganismi in un organismo ospite, che evoca una risposta immunitaria da parte di quest'ultimo. L'infezione può essere **asintomatica** (cioè clinicamente inapparente ma documentabile attraverso la ricerca di anticorpi specifici) oppure **sintomatica** (cioè clinicamente apprezzabile a causa della presenza di segni e sintomi);

malattia = infezione sintomatica il microrganismo provoca un danno che si manifesta con sintomi e segni di malattia, che spesso sono associati in modo caratteristico al tipo di microrganismo.

La capacità di un microrganismo di produrre danno nell'ospite dipende da vari fattori:

Invasività capacità di penetrare nell'ospite

Virulenza capacità di moltiplicarsi nell'ospite e di creare un danno, direttamente oppure mediante la produzione di sostanze tossiche (tossine);

Patogenicità capacità di causare una malattia. E' una caratteristica posseduta dai microrganismi anche se in grado diverso tra loro. Li rende capaci di interferire con il metabolismo cellulare dell'ospite, di produrre fattori citolitici o tossine con diverso percorso e bersaglio nell'ospite. E' un attributo del microrganismo relativo al tipo di organismo infettato: "infezioni specie specifiche" sono, infatti, quelle causate da agenti che danno malattia in una specie animale e non nell'altra.

Carica infettante = numero minimo di microrganismi in grado di penetrare nell'ospite e superarne le difese. E' una caratteristica della singola specie.

Es. Per causare malattia occorrono:

Salmonella typhi >1000 microrganismi

Shigella spp >100 microrganismi

Mycobacterium tuberculosis >1microrganismo

Per causare una malattia un microrganismo deve essere capace di:

- * entrare nell'ospite*
- * moltiplicarsi al suo interno*
- * resistere a o eludere le sue difese*
- * produrre danno nell'ospite (=malattia).*

L'assenza di una sola di queste capacità può diminuire o annullare del tutto la patogenicità del microrganismo.

Le difese dell'ospite possono essere distinte in:

1. Difese aspecifiche (barriere anatomico - funzionali)

- a. integrità della cute e delle mucose;
- b. sostanze battericide presenti nei fluidi corporei (es. lisozima nella saliva);
- c. acidità del succo gastrico.

2. Difese specifiche o immunitarie

insieme di cellule di vario tipo, in grado di riconoscere agenti estranei all'organismo e di reagire contro di questi, tramite l'azione diretta dei globuli bianchi e la produzione di anticorpi.

Le difese immunitarie sono caratterizzate dalla "capacità di memoria" dell'avvenuto incontro con un determinato microrganismo, per cui, nel caso di un secondo incontro, la risposta difensiva sarà rapida e immediata. Si parla, in questo caso, di stato immune dell'ospite.

Nei confronti di un determinato microrganismo ogni individuo può presentarsi come:

1. ***immune***, quando è protetto dall'infezione in seguito a un precedente contatto con l'agente patogeno o dopo una vaccinazione;
2. ***recettivo***, quando non è mai venuto a contatto e non è mai stato vaccinato contro quell'agente patogeno; in questo caso può contrarre la malattia.

I Batteri

Organismi unicellulari, di dimensioni molto piccole, con completa autonomia vitale e replicativa. Sono visibili al microscopio ottico (ordine dei μm).

Possono essere classificati:

in base al loro aspetto morfologico come:

- a. Cocchi, con forma sferica;
- b. Bacilli, con forma cilindrica;
- c. Vibrioni: con forma ricurva;
- d. Spirilli: con forma a spirale;

in base al modo in cui si aggregano fra di loro:

- a. Diplococchi, disposti a due a due;
- b. Streptococchi, disposti in catenelle;
- c. Stafilococchi, disposti a grappolo.

in base alla colorazione che assumono a seguito della colorazione di Gram

- a. Gram positivi
- b. Gram negativi

Questa semplice colorazione, in associazione con forma e modalità di aggregazione consente un rapido indirizzo sul tipo di batterio in causa, anche se una risposta definitiva potrà essere fornita solo dalla coltura e successiva caratterizzazione basata sulle caratteristiche morfologiche, dalla capacità di crescere in determinati terreni di coltura e dai prodotti del loro metabolismo.

in base al loro tipo di respirazione

- a. Aerobi facoltativi o obbligati
- b. Anaerobi facoltativi o obbligati

I batteri hanno dimensione da 0.1 –0.2 μm a 50 μm
(1 $\mu\text{m}=10^{-6}$ m)

Tali ridotte dimensioni condizionano un rapporto Superficie/Volume cellulare molto elevato ► un piccolo volume cellulare è a carico di una estesa superficie a contatto con l'ambiente esterno per l'assorbimento dei nutrienti e per l'escrezione di sostanze di rifiuto ► metabolismo attivo e quindi elevata velocità di crescita.

Dove crescono i batteri?

In natura ovunque siano disponibili condizioni di temperatura, umidità, pH e disponibilità di ossigeno (presenza/assenza) e di nutrienti adatti e fruibili.

In laboratorio = in terreni liquidi (brodi di coltura) o solidi (piastre di agar) contenenti vari nutrienti, e mantenuti in opportune condizioni di umidità, temperatura e O₂.

Come si replicano i batteri? Per "fissione binaria"



Struttura della cellula batterica:

Parete cellulare, una struttura rigida che avvolge la cellula come un contenitore, la protegge dalla lisi osmotica, e le conferisce la forma.

E' costituita da

peptidoglicano o glicopeptide = due amminozuccheri : N-acetil-glucosamina e acido N-acetil-muramico, uniti da un tipico legame glicosidico, cioè da un ponte ossigeno (al primo è legata una breve catena peptidica)

Acidi teicoici (nei Gram+): lunghe molecole di polisaccaridi acidi legati al peptidoglicano che costituiscono generalmente antigeni di superficie o somatici

Membrana esterna (solo nei Gram -): all'esterno della parete cellulare con l'interposizione di uno spazio periplasmico; composizione simile a quella della memb. citoplasmatica con una unica differenza= *porine* (canalicoli proteici)

Lipopolisaccaride (LPS) composto di una frazione polisaccaridica sporgente all'esterno e di una frazione lipidica (lipide A) immersa nella membrana esterna. La porzione esterna rappresenta l'antigene di superficie o somatico dei Gram-; la variabilità negli zuccheri che lo compongono = differenze antigeniche tra specie diverse e tra sierotipi nell'ambito della stessa specie.

Il lipide A è costituito da ac. grassi: caproico, miristico, laurico, palmitico e stearico.

Il lipide A costituisce le endotossine dei Gram-, costituenti batterici che esercitano attività tossica solo se la cellula lisa per invecchiamento, difese immunitarie o antibiotici battericidi

Effetti delle endotossine:

- febbre
- disturbi gastrointestinali (vomito e diarrea)
- ↓ di leucociti e piastrine
- necrosi tissutale
- vari fenomeni di congestione capillare e CID
- ipotensione, shock emorragico e morte

Capsula, strato mucoso e glicocalice

strutture analoghe che si possono distinguere in base allo spessore ed alla consistenza

non sono presenti in tutti i batteri

ove sono presenti, dipendono da condizioni ambientali (disponibilità di nutrienti, temperatura, etc)

la capsula è di natura polisaccaridica (solo in *Bacillus* è proteica), ed ha le seguenti funzioni:

- facilita l'adesione alle superfici (*)
- interferisce con la fagocitosi
- aiuta a resistere all'essiccamento

(*) La capsula di *Streptococcus mutans*, costituita da destano e sintetizzata a partire dal saccarosio alimentare, forma la matrice della placca dentaria con la quale questi batteri aderiscono alla superficie dentale; la successiva produzione di acidi, provenienti dal metabolismo del saccarosio, corrode lo smalto originando la carie.

Flagelli e fimbrie

Sono appendici filamentose di natura proteica (flagellina e pilina rispettivamente) che dalla membrana citoplasmatica protrudono all'esterno.

Le proteine flagellari = antigene H o flagellare, stimolano la produzione di anticorpi specifici (sue variazioni identificano diversi sierotipi H)

I flagelli sono organi di movimento

Funzioni delle fimbrie:

- adesività ai tessuti dell'ospite
- pili sessuali (coniugazione)

F+—————F-

→

Spora*

Struttura che le specie dei generi *Bacillus* e *Clostridium* formano in poche ore per resistere a condizioni ambientali sfavorevoli la sopravvivenza e la crescita

Forma vegetativa → Spora = **sporulazione**

Spora → Forma vegetativa = **germinazione**

* resistente a: calore, essiccamento, disinfettanti, radiazioni UV

Nella Tabella sono indicati i principali batteri patogeni per l'uomo.

Batteri Gram positivi	
Cocchi	Stafilococchi, Streptococchi
Bacilli sporigeni	Clostridium (tetano, gangrena),
Bacilli asporigeni	Listeria, Lattobacilli, Corinebatteri
* <i>bacilli ac.-alcohol-resistenti</i>	Micobatteri
Batteri Gram negativi	
Cocchi	Neisserie (meningococco, gonococco),
Bacilli	Enterobacteriacee Salmonella, Pseudomonas, Legionella, Brucella, Haemophilus
Vibrioni	Vibrio cholerae
Spirilli	Campylobacter
Spirochete	Treponema (Lue), Leptospira, Borrelia

Batteriemie

B. mono e polimicrobiche

B. transitorie

B. intermittenti

B. continue

Setticemia o sepsi = grave condizione clinica caratterizzata da febbre, brivido, malessere generale, tachicardia, iperventilazione, prostrazione, sintomi tossiemici. Si genera quando la velocità di replicazione dei batteri nel sangue supera quella di eliminazione dei batteri stessi da parte dei fagociti.

Eziopatogenesi della sindrome settica.

L' LPS della memb. esterna dei gram neg. è responsabile di una potente attivazione della risposta dell'ospite (la porzione detta Lipide A basta da sola ad innescare il quadro settico).

LPS+LPSBP (questa aumenta 100X nella fase acuta dell'infiammazione) lega il CD14 dei monociti e neutrofili → trasduzione del segnale → sintesi di citochine.

Anche

- costituenti della parete dei gram. pos
- enzimi extracellulari
- esotossina stafilococcica
- enterotossina B
- esotossine streptococciche (SPE A,B,C)

attivano la risposta dell'ospite.

Effetti di LPS

- ↑ **conc. plasmatiche di $TNF\alpha$** (da 1 a 4 h dopo, poi torna ai livelli normali).

$TNF\alpha$ causa: febbre, tachicardia, tachipnea, leucocitosi, mialgie, sonnolenza; ad alte dosi: shock, CID, necrosi emorragica ed ischemia gastrointestinale, polmonare e renale, acidosi metabolica e morte.

- ↑ **IL-1 β** . Elevata in quadri settici, induce effetti simili a quelli di $TNF\alpha$.

- **IL-8, 10, 6, $IFN\gamma$ ed α , GSF** (caratteristica sequenza temporale di comparsa nel corso di sepsi e shock settico.

- **IL-6** ↑ sino a 1000X e rimane elevata a lungo = parametro laboratoristico dotato di > predittività prognostica nelle setticemie.

- **IL-10** = meccanismo di regolazione dell'attivazione (inibisce la secrezione delle altre citochine)

- l'interazione Ab/costituenti della parete cellulare attiva la **via classica del complemento** → ↑ anafilotossine **C3a** e **C5a** (effetto proinfiammatorio)

- **PGs e Trombossani** → vasodilatazione periferica, aggregazione piastrinica.

- **attivazione fattore XII (fH) da LPS** → CID

Batteriemie in età pediatrica o giovanile

Streptococchi di gruppo B

Lysteria monocytogenes

Stafilo coagulasi pos. e neg.

E. coli ed altri enterobatteri (assoc. infez. urinarie)

Klebsiella spp (assoc. infez. resp.)

S. pneumoniae

N. meningitidis

H. influenzae (può seguire localiz. meningea)

Isolamento anaerobi poco frequente ed associato a infezione intra-addominale o pelvica.

Batteriemie in età geriatrica

Legata a condizioni predisponenti (patologie di base, metaboliche, neurologiche)

In maggioranza:

- **Gram negativi (prevale E. coli)**

Tra i **Gram positivi** : **S. aureus** (in portatori di cateteri intravascolari) e **S. pneumoniae** (nelle batteriemie originate dall'app. respiratorio)

I Virus

I virus sono organismi subcellulari, con dimensioni dell'ordine dei nanometri (visibili solo al microscopio elettronico).

Possiedono un solo acido nucleico, DNA o RNA e quindi sono incapaci di vita autonoma ma, per vivere e replicarsi, necessitano dell'apparato metabolico di una cellula.

Per questo sono costretti a infettare un organismo superiore, sia animale sia batterio, e sono detti parassiti endocellulari obbligati.

** Il fatto di uccidere l'organismo ospite è fatto accidentale, poiché è un evento sfavorevole per la sopravvivenza della specie virale.*

La particella virale o virione è costituita da varie parti:

- 1. Genoma o core** è la parte centrale del virus, costituita da un acido nucleico, RNA o DNA, che contiene l'informazione genetica. La classificazione dei virus si basa fondamentalmente sul tipo di genoma.
- 2. Capside** è l'involucro proteico di rivestimento che conferisce la forma al virus. L'insieme di core e capside prende il nome di nucleocapside.
- 3. Pericapside** o membrana pericapsidica è la struttura facoltativa che riveste il capside ed è di natura lipidica.

Schematicamente, la replicazione virale avviene in sei fasi:

1. Attacco del virus alla superficie della cellula da infettare: avviene mediante il legame di una struttura esterna del virus con un recettore cellulare, specifico per ciascun virus. Questo spiega perché virus colpiscono prevalentemente alcuni tipi di cellule piuttosto che altre: ci sono virus che colpiscono l'apparato respiratorio, altri il fegato e così via. Inoltre questo spiega anche la specie-specificità della maggior parte dei virus: in genere i virus animali non infettano l'uomo e viceversa.

2. Penetrazione nella cellula;

3. Esposizione dell'acido nucleico e replicazione dello stesso;

4. Sintesi delle proteine virali, codificata dal genoma del virus e attuata dalle strutture della cellula ospite;

5. Assemblaggio delle nuove componenti virali, che si uniscono a formare un nuovo virione intero;

6. Fuoriuscita dalla cellula delle nuove particelle virali: i nuovi virus possono uscire singolarmente lasciando integra la cellula (per gemmazione o budding), oppure possono uscire tutti insieme in seguito alla lisi, e quindi alla morte, della cellula stessa.

Principali virus patogeni per l'uomo

<i>Famiglia</i>	<i>Tipi</i>	<i>Malattia</i>
Virus a DNA		
Adenoviridae	Mastadenovirus	Faringo-tonsilliti, enteritis
Hepadnaviridae	HBV	Epatite virale B
Herpesviridae	HSV1 HSV2 VZV Citomegalovirus (CMV) Herpes virus 6 Epstein-BarrVirus (EBV) Herpes virus 8	Cutaneo, gengivo-stomatiti Herpes Genitale Varicella, Herpes Zoster Infezione neonatale, polmonite e retinite nell'immunodepresso Sesta malattia Mononucleosi infettiva Sarcoma di Kaposi
Parvoviridae	Parvovirus B19	Quinta malattia
Papovaviridae	Papillomavirus Poliomavirus	Condilomi, verruche
Poxviridae	Orthopoxvirus Molluscipoxvirus	Vaiolo Mollusco contagioso
Virus a RNA		
Orthomixoviridae	Influenzavirus	Influenza
Paramyxoviridae	Paramyxovirus Morbillivirus Pneumovirus	Parotite Morbillo Polmoniti e bronchioliti nel bambino
Picornaviridae	Enterovirus Poliovirus Echovirus, Coxsackie HAV Rhinovirus	Poliomielite Enteriti, Meningiti Epatite virale A Riniti, polmoniti
Togaviridae	Flavivirus Rubivirus HCV	Febbre gialla Rosolia Epatite virale C
Rhabdoviridae	Lyssavirus	Rabbia
Reoviridae	Rotavirus	Enteriti (bambini)
Retroviridae	HIV	AIDS

I Funghi o Miceti

Sono organismi eucarioti, unicellulari o pluricellulari, con dimensioni da 20 a 50 volte superiori a quelle della cellula batterica. Sono provvisti di una parete rigida composta da chitina.

Membrana citoplasmatica= fosfolipidi contenenti proteine e steroli, in particolare ergosteroli (bersaglio antimicotici).

Parete cellulare= 80-90% polisaccaridi; 10-20% proteine e lipidi.

(la sua rigidità è dovuta alla presenza di microfibrille costituite da CHITINA un polimero dell'N-acetilglucosamina, associata a polimeri del D-glucosio (lucani) e del D-mannosio (mannani), con la presenza di proteine solforate e di lipidi)

Il corpo del fungo o TALLO, può essere unicellulare o pluricellulare (ife).

MICELIO= insieme di ife. Si distingue in **AEREO** (funzioni di riproduzione) e **VEGETATIVO** (funzioni nutritive)

In base alla morfologia del tallo si distinguono:

- a. **Miceti filamentosi o muffe**, pluricellulari;
- b. **Lieviti**, unicellulari;
- c. **Funghi dimorfi**, i quali possono acquisire l'aspetto di muffa o di lievito in base alle caratteristiche ambientali.

I funghi possono causare diverse patologie che interessano l'uomo:

- **micosi superficiali**, interessano la cute, gli annessi e le mucose, e possono colpire chiunque;
- **micosi profonde**, infezioni localizzate a vari organi profondi oppure infezioni disseminate. Si manifestano quasi esclusivamente in soggetti con grave depressione delle difese immunitarie, e sono responsabili di quadri clinici solitamente molto gravi e potenzialmente fatali.

Principali funghi patogeni per l'uomo e relativi quadri clinici.

<u>Muffe</u>		
Dermatofiti	M. superficiali	Cute e annessi
Aspergilli	M. profonde	Polmoniti, sinusiti
<u>Lieviti</u>		
Pitrysporium	Pitiriasi versicolor	Cute
Candida	M. superficiali	Cute e annessi,
	M. profonde	mucose; Polmoniti, esofagiti, meningiti
Criptococco	M. profonde	Meningiti, setticemie
<u>Miceti dimorfi</u>		
Histoplasma	Istoplasmosi	Polmonite, infez. disseminata
Blastomyces	Blastomicosi	Cute, linfonodi, polmoniti
Coccidioides	Coccidioidomicosi	Polmonite, infez. disseminata

I Protozoi

Sono microrganismi unicellulari dotati di una struttura cellulare eucariota, più complessa rispetto a quella della cellula batterica e più simile a quella delle cellule animali. Molte specie sono dotate di motilità autonoma per la presenza di ciglia o flagelli (**Flagellati**), oppure per la presenza di movimenti ameboidi (**Rizopodi**); altre specie sono invece immobili (**Sporozoi**).

Tabella 4 Principali protozoi patogeni per l'uomo.	
Flagellati	
Giardia lamblia	Enterite acute e croniche
Trichomonas	Vaginiti, uretriti
Tripanosomi	Tripanosomiasi africana, M. di Chagas
Leishmanie	Leishmaniosi cutanea e viscerale
Rizopodi	
Entamoeba histolytica	Amebiasi (intestinale, epatica)
Acanthamoeba	Meningoencefaliti
Sporozoi	
Plasmodi	Malaria
Cryptosporidium	Enteriti nell'immunodepresso
Toxoplasma gondii	Linfoadeniti febbrili, patologia connatale, ascessi cerebrali nell'immunodepresso
Pneumocystis carinii	Polmonite interstiziale nell'immunodepresso

I Protozoi sono saprofiti del suolo e delle acque, ma possono anche essere commensali di animali e vegetali.

Molte specie di protozoi sono in grado di dare origine a una **forma cistica** = una fase del ciclo vitale durante la quale il parassita acquisisce una particolare resistenza a condizioni ambientali sfavorevoli; nella fase cistica non è possibile la replicazione.

La forma cistica è responsabile della diffusione ambientale del protozoo, che quando poi ritrova delle condizioni favorevoli è in grado di ritrasformarsi nella forma vegetativa, con la quale riprende la replicazione ed esercita la sua azione patogena.

Molti protozoi sono innocui per l'uomo, ma ve ne sono altri che sono in grado di provocare malattie infettive anche molto gravi.

Treponema pallidum

agente etiologico della sifilide

Spirochete sottili, elicoidali di dimensioni 0,1x5-15 μm .

Osservabili solo mediante microscopia in campo oscuro.

Non è possibile crescerle in vitro eccetto che in cellule selezionate in coltura.

Fattori di virulenza:

- le proteine della membrana esterna promuovono l'adesione alle cellule ospiti;
- la ialuronidasi può facilitare l'infiltrazione perivascolare;
- il rivestimento di fibronectina protegge dalla fagocitosi;
- la distruzione primaria del tessuto è il risultato della risposta immune dell'ospite verso l'infezione.

La sifilide è presente in tutto il mondo e rappresenta la terza più comune malattia batterica a trasmissione sessuale negli USA (dopo le infezioni da *N. gonorrhoeae* e *Chlamydia*).

La sifilide è una patologia strettamente umana e non ha altri ospiti naturali noti, *T. pallidum* è labile ed incapace di sopravvivere all'essiccamento o ai disinfettanti.

Vie di trasmissione:

- contatto sessuale
- da madre infetta (forma congenita)

T. pallidum è trasmesso principalmente durante le fasi precoci di malattia quando ci sono numerosi microrganismi nelle lesioni cutanee e mucose.

Nei primi stadi di malattia il Pz diventa batteriémico e, in assenza di terapia, la batteriemia può persistere fino ad 8 anni.

In questo periodo si può verificare la trasmissione da madre a feto. Dopo otto anni, la malattia può rimanere attiva, ma si ritiene che la batteriemia non sia ancora presente.

L'incidenza di sifilide congenita corrisponde a quella della sifilide in donne in età fertile.

Sifilide congenita

Le infezioni in utero possono portare a malattia fetale grave che può condurre a:

- infezioni latenti
- malformazioni di molti organi
- morte del feto

La maggior parte dei neonati infettati nasce senza evidenza clinica di malattia, poi sviluppa rinite seguita da un rash maculopapulare desquamante diffuso. Distruzione ossea tardiva e sifilide cardiovascolare sono comuni in neonati non trattati che sopravvivono alle fasi iniziali della malattia.

Test sierologici per la sifilide

Non treponemici:

- VDRL (Venereal Disease Research Laboratory)
- RPR (Rapid plasma reagin)

Misurano le IgG e le IgM (anticorpi reaginici) sviluppati contro i lipidi rilasciati dalle cellule danneggiate nelle fasi precoci di malattia e presenti sulla superficie cellulare dei treponemi.

L'Ag usato è la cardiolipina derivato da cuore di manzo.

Entrambi, misurano la flocculazione dell'antigene cardiolipina nel siero del paziente (il complemento sierico deve essere inattivato per 30 minuti prima dell'esecuzione del test VDRL).

Test sierologici per la sifilide

Treponemici:

- FTA-ABS (Fluorescent treponemal antibody adsorption)
- MHA-TP (Microhemagglutination test for Treponema pallidum)

Esami anticorpali specifici usati per confermare reazioni positive ottenute con i test VDRL o RPR.

Possono essere positivi più precocemente, rispetto ai non-treponemici, nella sifilide precoce o possono rimanere positivi quando gli esami aspecifici diventano negativi in Pz con sifilide terziaria.

MHA-TP è tecnicamente più facile da eseguire ed i risultati più facili da interpretare rispetto al FTA-ABS.

Il saggio di Western blot che utilizza treponemi interi come antigene è stato di recente impiegato con successo come test specifico di conferma.

CONDIZIONI ASSOCIATE A RISULTATI FALSO-POSITIVI DI TEST SIEROLOGICI

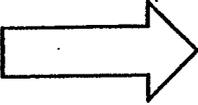
Test non treponemici	Test treponemici
Infezione virale	Pioderma
Artrite reumatoide	Neoplasia cutanea
LES	Acne vulgaris
Malattie acute o croniche	Micosi
Gravidanza	Ulcerazione crurale
Immunizzazione recente	Artrite reumatoide
Assunzione di farmaci	Psoriasi
Lebbra	LES
Malaria	gravidanza
	Farmaci
	Herpes genitale

La maggior parte dei "falsi-positivi" può essere chiarita con l'utilizzo del saggio di Western blot.

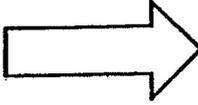
Famiglia delle Mycoplasmataceae:

2 generi *Mycoplasma* e *Ureaplasma*

Comprendono 13 specie patogene per l'uomo, tra cui:

M. pneumoniae  tracheobronchiti
polmoniti

M. hominis

M. genitalium  infezioni

M. urealyticum genitourinarie

Questi ed altri micoplasmi che colonizzano l'uomo sono stati associati con varie altre patologie, ad es. infertilità, aborto spontaneo, vaginiti, cerviciti, epididimiti, prostatiti. Comunque il loro ruolo etiologico in queste patologie resta sconosciuto.

Sono gli unici batteri

- sprovvisti di parete cellulare (quindi resistenti a penicilline, cefalosporine, vancomicina ed altri antibiotici che interferiscono con la sintesi della parete cellulare)
- con una membrana contenente steroli

Sono filamenti pleomorfi di 0.1-0.3 micron (agenti filtrabili) e perciò si pensava fossero virus, invece:

- si dividono per scissione binaria
- crescono su terreni acellulari artificiali
- contengono sia DNA che RNA

Sono anaerobi facoltativi (ad eccezione di *M. pneumoniae* che è aerobio obbligato), richiedono steroli esogeni forniti da siero animale aggiunto ai terreni di coltura.

M. genitalium e *M. urealyticum* possono essere causa di NGU (uretriti non gonococciche).

M. hominis è stato implicato quale causa di pielonefriti, malattia infiammatoria pelvica e febbre post-partum.

In questi casi il legame tra microrganismi e patologie si basa su:

1. isolamento nei campioni dei pazienti infetti
2. risposta sierologia al microrganismo
3. miglioramento clinico dopo trattamento specifico (eritromicina, tetracicline o clindamicina nel caso di resistenza ai primi)
4. patologia dimostrata in modelli animali
5. combinazione di tali reperti

I neonati, specialmente di sesso femminile, sono colonizzati da *M. hominis* (+), *M. genitalium* (+) e specie di *Ureaplasma* (+++) alla nascita.

Lo stato di portatore alla nascita non è di solito permanente, ma una piccola % di bimbi resta portatore in età prepuberale.

L'incidenza delle infezioni genitali da micoplasmi aumenta dopo la pubertà in coincidenza dell'inizio dell'attività sessuale.

Circa il 15% degli adulti sessualmente attivi è infettato da *M. hominis*, e il 45-75% da microrganismi del genere *Ureaplasma*.

Mentre la patologia causata da *M. pneumoniae* è ben nota e caratterizzata, le patologie causate da altri Micoplasmi sono definite molto meno chiaramente.

Test sierologici positivi in neonati da madri infette possono indicare passaggio passivo di anticorpi o una risposta immunitaria specifica all'infezione.

Queste due possibilità sono distinguibili mediante la misurazione dei titoli anticorpali sierici durante un periodo di 6 mesi. I titoli anticorpali in neonati non infetti diminuiscono fino a negativizzarsi entro 3 mesi dalla nascita, ma rimangono elevati in neonati con sifilide congenita.

Terapia, profilassi e controllo

La benzatin-penicillina a lunga durata è usata nelle fasi precoci di sifilide e la penicillina G è consigliata per la sifilide congenita e tardiva. I Pz allergici alla penicillina possono usare in alternativa doxicillina o tetraciclina (attenzione! Donne gravide non devono essere trattate con tetracicline!)

Non ci sono vaccini protettivi. L'unico controllo è rappresentato dalla prevenzione e dall'adeguato trattamento di partner sessuali di Pz con infezione documentata.

CHLAMYDIA

- Un tempo considerati virus per le piccole dimensioni
- Di forma rotondeggiante o ovalare con proiezioni a carico di un solo emisfero (non se ne conosce la funzione)
- Parassiti endocellulari obbligati
- Gram-negativi (meglio evidenziabili con Giemsa)
- Parete cellulare rigida con peptidoglicano sostituito da proteine ricche di cisteina
- Involucro esterno costituito da una componente lipopolisaccaridica (LPS) e da una proteina denominata MOMP (39.000/45.000 dalton) con probabile funzione di "porina"
- Rigidità della parete (ponti disolfuro tra le molecole MOMP e residui di cisteina nella molecola proteica)
- Non producono ATP (utilizzano quello della cellula parassitata)
- Genoma di 660×10^6 dalton

CICLO VITALE

- Ciclo vitale dimorfico contempla due forme morfologiche distinte:
 - un corpo elementare (CE) infettante per la sopravvivenza extracellulare
 - corpo reticolare (CR) non infettante per la moltiplicazione intracellulare.
- Il corpo elementare (CE) (piccolo, rotondeggiante, denso)
 - si lega ai recettori presenti sulla superficie delle cellule dell'epitelio mucoso mediante legame della MOMP
 - penetra con un processo detto di "endocitosi selettiva per il parassita"
 - penetrato nel fagosoma inibisce la fusione del fagosoma con i lisosomi cellulari impedendo la lisi intracellulare.
 - Clamidio inattivate al calore o rivestite di anticorpi vengono invece subito uccise dalla fusione del fagosoma con il lisosoma
 - Dopo 6-8 ore dall'entrata nella cellula il corpo elementare si idrata, si accresce e si trasforma in
- corpo reticolare (CR) metabolicamente attivo che si divide per scissione binaria
 - Il fagosoma in cui si accumulano i corpi reticolari viene detto "inclusione" ed è visibile al microscopio ottico
 - Dopo circa 24 ore i corpi reticolari vanno incontro a condensazione e a successiva liberazione per autolisi cellulare
 - I corpi reticolari sono sprovvisti di potere infettante.
- Presenza di granuli di glicogeno all'interno del fagosoma (liquido di Lugol)

CARATTERISTICHE ANTIGENICHE

- Antigeni lipo-polisaccaridici (LPS) comuni con altri batteri
- Antigeni specifici di genere e specie presenti nelle MOMP

PATOGENESI

- Non è stata identificata alcuna tossina specifica.
- Scarso il numero di cellule della mucosa che presentano "inclusione"
- Le malattie causate da Clamidia tendono a cronicizzate, in quanto non sono capaci di evocare una risposta immunitaria del tutto efficace
- All'infezione segue risposta immunitaria umorale, cellulo-mediata e secretoria

Genere *Chlamydia*

Comprende 4 diverse specie

<i>C.trachomatis</i>	Parassita dell'uomo e raramente del topo
<i>C.pneumoniae</i>	Parassita dell'uomo
<i>C.psittaci</i>	Parassita di uccelli e mammiferi (raramente trasmessa all'uomo)
<i>C.pecorum</i>	Parassita esclusivo di ovini e bovini

Chlamydia trachomatis

- Principale infezione umana da *Chlamydia*
- Se ne conoscono 3 biovar:
 1. Tracoma
 2. Linfogranuloma venereo
 3. Polmonite murina
- Cellule ciliate della mucosa del tratto respiratorio, dell'uretra, della cervice, dell'endometrio, delle tube di Falloppio, del retto e della congiuntiva possiedono i recettori per i CE
- Conosciuti 15 sierotipi (o varianti sierologiche o serovar) sulla base di differenze antigeniche della proteina principale della membrana esterna (MOMP)
- I sierotipi A, B, Ba e C sono responsabili del tracoma endemico
- I sierotipi D, E, F G, H, I, J, K sono agenti eziologici di infezioni genitali
- I sierotipi L₁, L₂, L₃ sono agenti eziologici del linfogranuloma venereo (LGV)

TRACOMA ENDEMICO

- Congiuntivite mucopurulente che evolve in cherato-congiuntivite follicolare
- I follicoli vanno incontro a necrosi dando luogo a processi cicatriziali della palpebra superiore e conseguente comparsa di lesioni corneali traumatiche dovute allo sfregamento delle ciglia. Segue formazione di un "panno corneale" cicatriziale anche a seguito di sovrapposizione di infezioni batteriche.
- La deformità della palpebra può svilupparsi anche 20-30 anni dopo che è cessata la malattia attiva
- Esita in cecità

INFEZIONI GENITALI

- Nell'uomo:** congiuntivite da inclusioni (o da corpi inclusi o paratrachoma)
uretrite non gonococcica (NGU)
uretrite post gonococcica (PGU)
- Nella donna:** infezione genitale ascendente
uretrite asintomatica
cervicite
endometrite
salpingite (causa di infertilità)
infezione peritoneale (PID, Pelvic inflammatory disease)
periepatite
- Nel neonato:** congiuntivite
polmonite interstiziale
(patologie correlate con le infezioni a trasmissione sessuale)

LINFOGRANULOMA VENEREO

- **Malattia a trasmissione sessuale**
- **Iniziale comparsa di ulcera o papula a livello genitale**
- **Infiammazione granulomatosa dei linfonodi regionali**
- **Formazione di fistole e retrazioni cicatriziali**
- **Replica nei fagociti mononucleati del sistema linfatico**

Chlamydia pneumoniae

- Agente eziologico di polmonite TWAR (Taiwan Acute Respiratory)
- Asintomatica
- Andamento benigno
- Autolimitante
- Può risultare pericolosa per adulti debilitati e bambini piccoli

Chlamydia psittaci

- Agente eziologico della ornitosi umana o Psittacosi
- Trasmessa dal materiale fecale anche essiccato di colombi, pappagalli, anatre o tacchini all'uomo
- L'uomo è un ospite "a vicolo cieco" cioè incapace di trasmettere l'infezione
- Infezione per via inalatoria
- Incubazione di 1-3 settimane
- Diffusione al sistema reticolo-endoteliale di fegato e milza
- Riproduzione a questo livello e produzione di necrosi focale
- Colonizzazione del polmone per via ematica
- Determina polmonite interstiziale con grave andamento clinico
- Edema, ispessimento della parete alveolare, emorragia
- Soggetti a rischio:
 - Veterinari
 - Lavoratori degli zoo
 - Lavoratori dei negozi di animali domestici
 - Addetti alla manipolazione del pollame
- Sintomatologia:
 - mal di testa
 - febbre elevata
 - anoressia
 - tosse non produttiva
 - nausea, vomito, diarrea
 - epatomegalia
 - splenomegalia
 - cheratocongiuntivite follicolare

DIAGNOSI DI INFEZIONE DA CHLAMYDIA

- Isolamento in colture di cellule in vitro
- Ricerca del DNA batterico mediante PCR
- Ricerca di antigeni specifici mediante reazioni immunoenzimatiche
- Nell'infezione da *Chlamydia tracomatis* la ricerca di anticorpi non ha valore diagnostico
- Anticorpi presenti nelle lacrime sono invece correlati alla gravità della malattia
- Nell'infezione da *C.pneumoniae* e *C. psittaci* la sierodiagnosi invece ha valore diagnostico.

TECNICHE DI ISOLAMENTO DI CHLAMYDIA

- Il campione ottenuto mediante tampone o prelievo mediante rettoscopia o laparoscopia
- "corpi inclusi" nelle cellule sono evidenziabili con colorazione semplice (Giemsa) o impiegando anticorpi monoclonali florescinati verso antigeni specie-specifici.
- Le inclusioni (glicogeno) vengono evidenziate con colorazione con soluzione di iodio
- Possono essere isolate su colture cellulari o con inoculazione intracerebrale nel topo
- L'isolamento ottimale si ha centrifugando i corpi elementari della Chlamidia su un monostrato cellulare di cellule McCoy, HeLa 299 o BHK-21, irradiate o trattate, dopo l'infezione, con inibitori metabolici (cicloesimide 1µg/ml).
- La funzione degli inibitori metabolici è quella di inibire le sintesi macromolecolari della cellula parassitata per rendere i precursori disponibili per il parassita.

TERAPIA

- Sono insensibili al trattamento con antimicrobici attivi sulla parete
- Farmaco di elezione: tetracicline
- Farmaco alternativo: eritromicina
- *Chlamydia tracomatis* è la sola specie sensibile ai sulfamidici

Antigeni

La *capsula*, di natura polisaccaridica, presenta antigeni diversi che consentono una suddivisione in gruppi nell'ambito dei meningococchi.

Tramite tecniche di siero-agglutinazione sono stati identificati almeno 13 sierogruppi di meningococchi: A, B, C, D, X, Y, Z, E, W-135, H, I, K ed L.

A livello della *membrana esterna* sono presenti antigeni somatici, come accade per altri batteri gram negativi. Tra quelli più studiati troviamo un lipo-oligosaccaride (analogo al lipopolisaccaride dei bacilli enterici gram neg.) ed alcune proteine, le cui variazioni strutturali consentono la individuazione di differenti sierotipi. E' stato dimostrato che alcuni epitopi del lipo-oligosaccaride sono efficaci come vaccini.

Esempio di classificazione proposto in base a:

- sierogruppo
- sierotipo proteico
- sierotipo lipo-oligosaccaridico

NEISSERIE

Cocchi gram negativi. La forma delle singole cellule è grossolanamente reniforme e di solito esse sono disposte in coppie (diplococchi) con la parte piano-concava affrontata (a chicco di caffè).

Le neisserie sono batteri aerobi-anaerobi facoltativi, immobili, asporigeni, spesso capsulati. Tutte producono catalasi e sono positive per la ossidasi (citocromo C).

In larga parte commensali delle prime vie aeree, sono raggruppate in 4 specie:

- N. sicca
- N. subflava
- N. flavescens
- N. mucosa

Le specie patogene per l'uomo sono:

- N. meningitidis
- N. gonorrhoeae

Neisseria meningitidis

La manifestazione clinica di tale infezione è rappresentata da un'inflammatione purulenta delle meningi, che si accompagna a lesioni infiammatorie dell'encefalo o del midollo spinale di vario grado.

Sintomi e segni clinici:

- rigidità nucale
- cefalea
- febbre
- irritabilità
- disturbi mentali
- nausea e vomito
- esantema

Evoluzione rapida e talora infausta.

- Forme sporadiche (non epidemiologicamente correlate)
- Focolai epidemici (collettività chiuse, provincie)

Sorgente di infezione: uomo (portatori sani che ospitano l'agente nel rino-faringe; la percentuale di portatori sani aumenta nel periodo pre-epidemico: fine inverno/primavera). L'infezione si contrae per via inalatoria, il meningococco si localizza nel rino-faringe da cui poi diffonde per via ematica raggiungendo le meningi.

Più colpite sono la prima infanzia e l'età adulta.

Azione patogena

I meningococchi sono in linea di massima parassiti extracellulari (att.ne nei materiali patologici li vediamo all'interno dei fagociti), nel senso che non sono in grado di sopravvivere all'interno dei fagociti.

La capsula ha azione anti-fagocitaria (vedi valore protettivo degli anticorp diretti contro antigeni capsulari).

Endotossina responsabile del danno che coinvolge anche i vasi ed è complicato da reazioni infiammatorie locali e generalizzate.

I meningococchi possiedono pili, il cui ruolo (non fondamentale però) è quello di funzionare da ligando (long-range attachment) nell'attacco a cellule umane di tipo epiteliale ed endoteliale. Fondamentali in tal senso sembrano essere invece alcuni fattori di aderenza quali alcune proteine della membrana esterna. I batteri, non capsulati, sono incorporati in vacuoli e trasportati verso la superficie baso-laterale della cellula.

Manifestazioni cliniche.

1. Batteriemia senza sepsi.

Esempio: Il ricovero è di solito per sintomi di infezione delle alte vie respiratorie o esantema virale. Emocoltura positiva per *N. meningitidis*.

2. Meningococcemia senza meningite.

Il paziente presenta uno stato settico, segni di leucocitosi, rash cutaneo, malessere generalizzato, prostrazione, cefalea, ipotensione.

3. Meningite con o senza meningococcemia.

In questi pazienti, cefalea, malessere e segni meningei sono presenti in associazione alla presenza di liquor torbido. Il sensorio è alterato in grado variabile. I riflessi tendinei superficiali e profondi sono presenti, mentre non sono apprezzabili riflessi patologici.

4. Meningo-encefalite.

Pazienti con grave ottundimento del sensorio, segni meningei e liquor torbido. I riflessi tendinei superficiali e profondi sono assenti. Sono apprezzabili riflessi patologici.

L'entità di tali manifestazioni è variabile ed il paziente può progredire dall'uno all'altro quadro clinico durante la malattia.

Lesioni cutanee di tipo petecchiale sono comuni. Esse correlano con il grado di piastrinopenia e sono indice di evoluzione verso fenomeni di tipo emorragico secondari a CID = coagulazione intravasale disseminata.

Identificazione

Patognomonico è il repero di diplococchi gram negativi nel sedimento liquorale di un paziente che presenta sintomi meningei.

Immunofluorescenza con anti-sieri specifici.

Per il successo dell'esame colturale è necessario che il materiale patologico venga seminato al più presto (bassa resistenza del microrganismo nell'ambiente) in piastre di agar-sangue cotto a 60°C (agar cioccolato) a 37°C e al 5°C di CO₂. Si assiste alla comparsa delle colonie mucose e translucide, di 2-3 mm di diametro) entro 24-48 ore dalla semina.

Per l'identificazione delle colonie é utile anche la prova dell'ossidasi: le neisserie incubate sono in grado di ossidare, in presenza di ossigeno libero (aerobiosi), alcuni composti organici aromatici incolori trasformandoli in composti colorati. Lasciando cadere sulle colonie una goccia di una soluzione di demetil-p-fenilendiamina in alfa-naftolo, le colonie si colorano in blu per la formazione di indofenolo.

Risposta immunologica dell'ospite verso antigeni meningococcici.

La percentuale di individui con attività sierica battericida verso *N. meningitidis* è inversamente proporzionale all'incidenza della meningite meningococcica nei primi 12 anni di vita.

Alla nascita, come risultato del trasferimento di Ab materni, circa il 50% dei bambini presenta anticorpi battericidi. Il titolo di questi decresce dopo la nascita e raggiunge un nadir tra i 6 ed i 24 mesi di età, quindi si assiste ad un incremento lineare fino ai 12 anni. Nell'età adulta la prevalenza di Ab battericidi varia secondo i differenti sierogruppi, ma va dal 67% per il gruppo A all'86% per il gruppo B.

Gli Ab battericidi hanno azione protettiva (non in senso assoluto però) verso il sierogruppo omologo durante una epidemia. Può essere affermato che, in presenza di colonizzazione naso-faringea con un ceppo patogeno, la mancanza di Ab specifici battericidi è associata con lo sviluppo di meningococcemia.

Gli Ab battericidi sono diretti sia verso il polisaccaride capsulare che verso altri antigeni della parete cellulare.

Per quanto riguarda il ruolo delle IgA di superficie, è stato dimostrato che il meningococco produce una proteasi in grado di clivare il frammento Fc delle IgA sieriche e secretorie dalla porzione Fab della molecola. La produzione di tale proteasi è stata osservata nei ceppi patogeni di meningococchi e gonococchi.

Neisseria gonorrhoeae

La manifestazione clinica di tale infezione è la gonorrea, infezione trasmessa esclusivamente tramite contatto sessuale o al neonato al momento del parto. Interessa la mucosa del basso tratto genitale e meno frequentemente quella del retto, dell'orofaringe e della congiuntiva. Nelle donne sono frequenti infezioni ascendenti che esitano in forme di salpingite acuta che costituisce più comune causa di infertilità femminile.

N. gonorrhoeae è un diplococco gram negativo, immobile, non sporigeno, ossidasi positivo. E' distinto da altre neisserie per la sua abilità a crescere su terreni selettivi, ad usare glucosio ma non maltosio, saccarosio o lattosio, a ridurre i nitriti e la sua incapacità a crescere bene a ridotte temperature o su semplice agar.

Resiste poco all'essiccamento ed in genere nell'ambiente, perciò l'inoculo del campione deve essere eseguito al più presto ed incubato a 35-37°C ed in presenza del 5% di CO₂.

Tutti i ceppi sono aerobi stretti in normali condizioni di coltura, ma quando nitriti sono disponibili come accettori di elettroni i microrganismi crescono anche in anaerobiosi. Colonie tipiche compaiono entro 24-48 ore,

ma dopo la vitalità dei microrganismi decade rapidamente per fenomeni di autolisi. Terreno d'elezione è l'agar cioccolato arricchito con glucosio ed altri supplementi (es. vancomicina, colistina, nistatina, etc.).

Strutture di superficie

Al momento dell'isolamento, *N. gonorrhoeae* possiede un antigene capsulare, di natura polisaccaridica, ad azione antifagocitaria, detto "antigene K" che poi si perde rapidamente nelle colture.

PILI.

Le specie provviste di pili aderiscono meglio alle mucose umane e sono quindi più virulente.

I pili attraversano la membrana esterna del gonococco e sono costituiti di sub-unità proteiche ripetute (pilina) con mw 19 ± 2.5 kD. La pilina mostra zone di considerevole similarità antigenica intra-specie, soprattutto in prossimità della porzione amino-terminale, ma sostanziali differenze antigeniche sono anche presenti. Un singolo ceppo di gonococco è in grado di produrre pili di differente composizione antigenica e questo ha reso difficile l'impiego di vaccini sperimentali.

I pili contribuiscono anche alla resistenza del microrganismo nei confronti del killing mediato dai neutrofili. CD46 come recettore per la pilina.

A parte l'azione dei pili, la colonizzazione delle mucose genitali da parte di *N. gonorrhoeae* è favorita anche dalla produzione di alcune proteasi che riescono ad inattivare le IgA1.

MEMBRANA ESTERNA.

Come altri gram negativi, il gonococco possiede un involucro cellulare composto di tre strati distinti: una membrana citoplasmatica interna, uno strato intermedio di peptidoglicano che costituisce la parete cellulare ed una membrana esterna. Questa contiene un lipooligosaccaride (LOS), fosfolipidi e varie proteine tra le quali troviamo una porina detta proteina I di 32-36 kD strettamente associata con il LOS.

L'azione tossica della endotossina (LOS) è fondamentale per l'azione patogena del microrganismo.

Trasmissione

A parte la possibilità della trasmissione perinatale dell'infezione, la modalità classica della trasmissione interumana della gonorrea è rappresentato dal contatto sessuale con un partner infetto.

Il rischio di tale trasmissione è stato stimato pari al 20% per esposizione e sale al 60-80% dopo più di 4 esposizioni. L'infezione è generalmente trasmessa da individui con infezione asintomatica o portatori di sintomi lievi peraltro ignorati (fattori demografici e socio-economici).

Forme cliniche

Infezione genitale in individui di sesso maschile.

La forma predominante è una uretrite acuta che si manifesta, dopo un periodo di incubazione tipico di 2-5 o al massimo di 10 giorni, con secrezione anomala di tipo purulento e disuria. E' possibile una risoluzione spontanea di tale sintomatologia nell'arco di alcune settimane. In altri casi occorrono complicanze dell'uretrite come epididimite acuta, linfangite, ascessi periuretrali, prostatite acuta.

Infezione genitale in individui di sesso femminile.

La localizzazione primaria dell'infezione è rappresentata dall'endocervice uterina. La percentuale di donne infette asintomatica è del 90%, molto più alta che nel sesso maschile. Una secrezione purulenta rappresenta il segno fondamentale nelle infette sintomatiche.

Gonorrea anorettale.

Circa il 40% delle donne con gonorrea non complicata ed una simile percentuale di omosessuali maschi, hanno colture rettali positive per *N. gonorrhoeae*. Occasionalmente possono manifestarsi proctiti

accompagnate a secrezione purulenta o sanguinamento e tenesmo. Diagnosi differenziale con forme da *C. trachomatis* o HSV.

Gonorrea faringea

Fattore di rischio è rappresentato dai rapporti sessuali orogenitali. Questa forma è osservata nel 10-20% di donne eterosessuali con gonorrea e nel 10-25% di maschi omosessuali infetti, ma è presente solo nel 3-7% degli eterosessuali maschi con gonorrea.

Infezione oculare

Nell'adulto questa forma risulta dall'autoinoculo della congiuntiva in persone con gonorrea genitale. Questa congiuntivite è di solito severa con essudazione purulenta congiuntivale seguita da ulcerazione corneale nei casi in cui non venga instaurata prontamente opportuna terapia antibiotica.

Malattia infiammatoria pelvica

Nel 10-20% delle donne infette si ha risalita dell'infezione con conseguenti endometriti, salpingiti, ascessi delle tube e dell'ovaio, peritoniti pelviche, etc.

E' stato stimato che le adolescenti, piuttosto che le donne mature, e le donne che usano presidi contraccettivi intrauterini, vanno più frequentemente incontro a queste forme cliniche.

Il sintomo fondamentale è rappresentato dal dolore addominale bilaterale, cui seguono incoantemente febbre elevata, brividi, nausea e vomito. Leucocitosi, elevata velocità di eritrosedimentazione e proteina C reattiva positiva sono dati di laboratorio comuni in tali casi.

Gonorrea in gravidanza

E' associata con aumentato rischio di aborto spontaneo, parto prematuro, rottura precoce delle membrane e mortalità perinatale, ma la responsabilità dell'infezione gonococcica in tali casi non è assoluta.

Le manifestazioni cliniche della gonorrea in gravidanza sono quelle classiche, eccetto che per il fatto che la malattia infiammatoria pelvica ed una forma di periepatite non sono comuni dopo il primo trimestre di gravidanza, via via che il prodotto del concepimento occupa la cavità uterina.

Infezioni neonatali e pediatriche

Madri infette possono trasmettere *N. gonorrhoeae* al neonato in utero, durante il parto o nell'immediato post-parto. L'ophthalmia neonatorum è la forma clinica risultante più frequente e, prima nei paesi industrializzati poi in quelli in via di sviluppo, costituisce la causa di cecità più comune.

La profilassi effettuata, nell'immediato post-parto, tramite instillazione nella congiuntiva di una soluzione acquosa all'1% di nitrato d'argento è generalmente più efficace dell'uso di eritromicina o tetracicline. Tuttavia la profilassi migliore è rappresentata dallo screening e dal trattamento della gravida.

La malattia disseminata con setticemia ed artrite è una forma clinica relativamente meno frequente.

DIAGNOSI

La diagnosi di laboratorio è rappresentata dall'identificazione del microrganismo nel sito di infezione o nel materiale purulento secreto mediante coltura (vedi caratteristiche delle colonie ed identificazione mediante colorazione Gram) o PCR, mentre la ricerca di antigeni o la sierologia non sono utili in tal senso.

TRATTAMENTO

Penicilline. Attenzione ai patterns di suscettibilità agli antimicrobici che variano grandemente in varie aree geografiche.

I Protozoi

Sono microrganismi unicellulari dotati di una struttura cellulare eucariota, più complessa rispetto a quella della cellula batterica e più simile a quella delle cellule animali. Molte specie sono dotate di motilità autonoma per la presenza di ciglia o flagelli (**Flagellati**), oppure per la presenza di movimenti ameboidi (**Rizopodi**); altre specie sono invece immobili (**Sporozoi**).

Tabella 4 Principali protozoi patogeni per l'uomo.	
Flagellati	
Giardia lamblia	Enterite acute e croniche
Trichomonas	Vaginiti, uretriti
Tripanosomi	Tripanosomiasi africana, M. di Chagas
Leishmanie	Leishmaniosi cutanea e viscerale
Rizopodi	
Entamoeba histolytica	Amebiasi (intestinale, epatica)
Acanthamoeba	Meningoencefaliti
Sporozoi	
Plasmodi	Malaria
Cryptosporidium	Enteriti nell'immunodepresso
Toxoplasma gondii	Linfoadeniti febbrili, patologia congenita, accessi cerebrali nell'immunodepresso
Pneumocystis carinii	Polmonite interstiziale nell'immunodepresso

I Protozoi sono saprofiti del suolo e delle acque, ma possono anche essere commensali di animali e vegetali.

Molte specie di protozoi sono in grado di dare origine a una **forma cistica** = una fase del ciclo vitale durante la quale il parassita acquisisce una particolare resistenza a condizioni ambientali sfavorevoli; nella fase cistica non è possibile la replicazione.

La forma cistica è responsabile della diffusione ambientale del protozoo, che quando poi ritrova delle condizioni favorevoli è in grado di ritrasformarsi nella forma vegetativa, con la quale riprende la replicazione ed esercita la sua azione patogena.

Molti protozoi sono innocui per l'uomo, ma ve ne sono altri che sono in grado di provocare malattie infettive anche molto gravi.

TOXOPLASMA GONDII

Parassita intracellulare coccidico, si riscontra in vari animali inclusi uccelli e uomo

Serbatoio ospite è il comune gatto domestico insieme ad altri felini

I microrganismi si sviluppano nelle cellule intestinali del gatto e mediante un ciclo extraintestinale in tessuti infettati per via ematica.

I m. formati dal ciclo intestinale vengono espulsi con le feci del gatto e maturano in cisti infettive dopo 3-4 gg nell'ambiente esterno

Esse possono essere ingerite da altri animali o dall'uomo e produrre infezioni acute e croniche a carico di vari tessuti tra cui il cervello.

Dalle oocisti alcune forme infettive, o trofozoiti, si sviluppano in elementi caratterizzati da morfologia esile a mezzaluna, detti tachizoiti, e sono proprio queste forme in attiva moltiplicazione i responsabili dell'infezione iniziale e del danno tessutale.

L'uomo si infetta in due modi:

1. ingerendo carne non propriamente cotta proveniente da ospiti intermedi
2. ingerendo feci di gatto contaminate da oocisti

Durante la gravidanza può aversi infezione transplacentare a seguito di infezione materna, con effetto devastante sul feto.

Malattia sintomatica o asintomatica.

I sintomi si manifestano quando il parassita si sposta dal sangue ai tessuti, dove diventa intracellulare.

In caso di malattia sintomatica acuta (simil-mononucleosica), l'infezione è caratterizzata da distruzione cellulare, riproduzione dei microrganismi e formazione di cisti. Possono essere colpiti molti tessuti, ma c'è una predilezione particolare per cellule di:

- polmone
- cuore
- organi linfatici
- SNC incluso l'occhio

I segni e sintomi della malattia cronica sono: linfadenite, raro esantema, epatite, encefalomielite e miocardite; in alcuni casi si ha corioretinite che può portare a cecità.

TOXOPLASMOSI

La toxoplasmosi è una zoonosi causata dal *Toxoplasma gondii*, un microrganismo che compie il suo ciclo vitale, estremamente complesso e diverso a seconda dell'ospite, solo all'interno delle cellule.

Il parassita può infettare moltissimi animali (dai mammiferi agli uccelli, dai rettili ai molluschi) e può trasmettersi da un animale all'altro attraverso l'alimentazione con carne infetta.

Il *Toxoplasma gondii* non si trova solo nella carne, ma anche nelle feci di gatto e nel terreno in cui abbia defecato un gatto o un altro animale infetto.

Il soggetto che contrae una toxoplasmosi resta protetto per tutto l'arco della vita da recidive, perché risponde all'infezione con produzione di anticorpi e linfociti specifici.

La toxoplasmosi è ad alto rischio nel caso in cui venga contratta in gravidanza: l'infezione può infatti passare al bambino attraverso la placenta, provocando in determinate circostanze malformazioni o addirittura l'aborto o la morte in utero. La toxoplasmosi rappresenta dunque un importante elemento di cui tenere conto nell'ambito della salute materno-infantile.

Nell'infezione da *Toxoplasma gondii* è possibile distinguere due fasi successive:

La prima (toxoplasmosi primaria) è caratterizzata da un periodo di settimane o mesi in cui il parassita si può ritrovare nel sangue e nei linfonodi in forma direttamente infettante. È la fase sintomatica della toxoplasmosi, che si accompagna a ingrossamento delle linfoghiandole, stanchezza, mal di testa, mal di gola, a volte febbre ed epatosplenomegalia. Esistono casi di toxoplasmosi primaria complicati da infiammazione della zona visiva dell'occhio (corioretinite, che può compromettere la vista) e dell'encefalo, oltre a sintomi attribuibili a una malattia autoimmune, di solito negli immunocompromessi.

La risposta del soggetto al *Toxoplasma gondii* determina il passaggio alla seconda fase della toxoplasmosi (toxoplasmosi postprimaria), caratterizzata dall'assenza di segni clinici e di laboratorio dell'infezione acuta, ma con la persistenza del parassita nell'organismo, "incistato" nei muscoli e nel cervello. Se le difese immunitarie vengono meno (sia per malattia, sia per trattamenti medici), il microrganismo può tornare aggressivo, riprodursi e indurre nuovi danni.

Allo stato attuale non esiste un vaccino contro la toxoplasmosi: non è quindi possibile garantirne la prevenzione assoluta. Ci sono però comportamenti che possono ridurre notevolmente il rischio di contrarre questa malattia.

Fattori di rischio principali sono legati all'alimentazione (dal 30 al 63% dei casi dovuti all'assunzione di carne di maiale e agnello poco cotta).

Evitare di assaggiare la carne mentre la si prepara e lavarsi molto bene le mani sotto acqua corrente dopo averla toccata. Se si evita di mangiare carne cruda, semicruda e salumi durante la gravidanza, può essere evitato il 41% delle infezioni in gravidanza.

Altra fonte di contaminazione è la terra degli orti e dei giardini, dove animali infetti possono aver defecato.

Chi svolge attività di giardinaggio si lavi molto bene le mani prima di toccarsi la bocca o la mucosa degli occhi. Lo stesso vale per ortaggi e frutta fresca, che vanno lavati accuratamente sotto acqua corrente.

Si è ridimensionata l'attenzione nei confronti del gatto domestico come portatore della malattia.

Esso è infatti alimentato con prodotti in scatola e la sua lettiera è cambiata tutti i giorni (le cisti del parassita si schiudono dopo tre giorni a temperatura ambiente e alta umidità).

Il vero serbatoio della toxoplasmosi è invece rappresentato dai gatti randagi, che si infettano cacciando uccelli e topi contaminati, e che possono defecare nel terreno rilasciando Toxoplasma anche per diverse settimane.

Nel caso in cui la donna dovesse essere contagiata durante la gravidanza, è possibile bloccare la trasmissione dell'infezione al bambino attraverso un trattamento antibiotico mirato, es. spiramicina, un antibiotico ben tollerato sia dalla madre sia dal feto.

Esistono anche combinazioni antibiotiche più efficaci (pirimetamina e sulfadiazina) almeno nell'impedire la comparsa di postumi all'anno di vita: l'uso di questa combinazione è d'obbligo quando la trasmissione dell'infezione al feto sia dimostrata attraverso l'amniocentesi.

Nel caso in cui il trattamento non sia adeguato o sia iniziato troppo tardi, il bambino potrebbe avere una malattia grave già visibile alla nascita.

Con le attuali possibilità di trattamento, almeno il 90% dei bambini con toxoplasmosi congenita nasce senza sintomi evidenti e risulta negativo alle visite pediatriche di routine. Solo attraverso indagini strumentali più raffinate possono essere rilevabili piccole anomalie a carico dell'occhio e dell'encefalo.

Le probabilità di trasmissione dell'infezione materna al feto aumentano man mano che la gravidanza progredisce:

- i bambini la cui mamma abbia contratto la toxoplasmosi dopo le 16-24 settimane di gestazione appaiono spesso normali alla nascita, anche se opportune indagini strumentali possono mettere in rilievo alcune anomalie.

- i feti contagiati nelle prime settimane di gravidanza, invece, sono quelli che subiscono le conseguenze più gravi dell'infezione congenita: interruzione spontanea della gravidanza, idrocefalia, lesioni cerebrali che possono provocare ritardo mentale ed epilessia, ridotta capacità visiva che può portare fino alla cecità.

Aspetti epidemiologici

Nel mondo l'incidenza della toxoplasmosi è estremamente variabile: dal 3 al 70% degli adulti risultano sieropositivi per la malattia.

La percentuale è nettamente più elevata nel caso di pazienti già affetti da immunodeficienza (trapiantati o malati di AIDS), che raggiungono percentuali del 50%.

Questa variabilità è in funzione del clima (più diffusa nei Paesi caldo-umidi, meno in quelli freddi), delle condizioni igieniche (più frequente dove l'acqua da bere scorre all'aperto e dove la contaminazione fecale dell'ambiente è elevata), delle abitudini alimentari (più frequente nelle popolazioni che mangiano maiale rispetto a quelle la cui dieta è ricca di pesce). In tal senso, spostarsi da un Paese a bassa circolazione di toxoplasmosi verso uno ad alta circolazione (come il Brasile) rappresenta un possibile rischio per la gestante non protetta.

Diagnosi

Poiché la malattia è spesso asintomatica, idealmente sarebbe bene conoscere il proprio stato prima della gravidanza, e cioè sapere se nel proprio siero siano presenti gli anticorpi per la toxoplasmosi.

Il Toxo-test, permette di classificare le donne in tre classi: "protetta", "susceptibile" o "a rischio".

L'infezione induce nell'ospite corpo la produzione di Ig specifiche: nella prima fase della malattia (quella pericolosa per il nascituro) vengono prodotte IgM, successivamente (in una fase meno rischiosa) gli anticorpi prodotti sono di classe IgG.

Il Toxo-test permette quindi di verificare l'assenza o la presenza di anticorpi, e, in questo secondo caso, di evidenziare se si è ancora in una fase a rischio o se invece la donna è da considerarsi protetta.

Se la condizione della donna non è nota prima della gravidanza, allora il Toxo-test deve essere prontamente eseguito durante la gravidanza, con la prima serie di esami del sangue entro le prime otto settimane di gestazione.

Se la donna è protetta (ha gli IgG) il test non deve più essere ripetuto.

Nel caso in cui invece la gestante sia "susceptibile", e quindi non abbia IgG né IgM, deve eseguire almeno altri due controlli nel corso della gravidanza, a 20 e 36 settimane, per escludere la possibilità di essersi infettata e che quindi il bambino rischi di contrarre una toxoplasmosi congenita.

Nel caso in cui il test dia come risultato la presenza di anticorpi IgM, l'infezione in gravidanza è comunque solo sospetta. Si procede quindi con test sierologici più sofisticati presso centri di riferimento di riconosciuta esperienza sia per accertare la diagnosi sia, eventualmente, per disegnare una terapia. Se l'infezione è confermata, il nascituro, anche se apparentemente sano, dovrà essere seguito per almeno tutto il primo anno di vita da un centro specializzato per poter escludere eventuali danni cerebrali e visivi che insorgano nei mesi successivi.

HERPESVIRUS

La famiglia di virus Herpesviridae infetta mammiferi, uccelli, pesci e rettili.

I membri di tale famiglia che infettano l'uomo sono otto: HSV tipo 1 e tipo 2, VZV, CMV, EBV, HHV-6, HHV-7 e HHV-8. Un'altro herpesvirus (virus B) può essere trasmesso all'uomo dal suo ospite naturale che è la scimmia.

La caratteristica peculiare di questa famiglia di virus è la possibilità di latentizzare a seguito di infezione primaria. A distanza di tempo l'infezione si può riattivare (infezione ricorrente) , dando luogo a patologie che possono presentarsi in maniera differente dall'infezione primaria.

Sia l'infezione primaria che le ricorrenze sono spesso asintomatiche o paucisintomatiche.

Alcune infezioni da herpesvirus possono essere trasmesse per via verticale. A seconda del tipo di virus e dell'epoca gestazionale in cui avviene la trasmissione possono verificarsi danni fetali di vario genere e di varia gravità.

COMPOSIZIONE E STRUTTURA

Sono virus grandi 100-200 nm a forma rotondeggiante, composti da ac. nucleico, proteine, lipidi e carboidrati.

Il genoma è costituito da DNA a doppia elica, lineare, con dimensioni da 80 a 150x10⁶ d, racchiuso da un capsidico icosaedrico formato da 162 capsomeri (12 pentoni e 150 esoni). Il capsidico è circondato da uno strato proteico amorfo, detto tegumento, mentre la struttura più esterna è costituita da un pericapsidico doppio da cui sporgono 5-7 differenti glicoproteine virali.

CLASSIFICAZIONE

La famiglia Herpesviridae è divisa in 3 sottofamiglie.

1. α -herpesviridae: HSV1, HSV2 e VZV. Hanno in comune un ciclo replicativo relativamente breve, un marcato effetto citopatico ed un tropismo tissutale ampio. La sede preferenziale di latenza è rappresentata dai gangli nervosi.
2. β -herpesviridae: CMV, HHV-6 ed HHV-7. Hanno in comune un ciclo replicativo più lungo, un ristretto tropismo cellulare e la capacità di indurre sincizi (per CMV effetto citopatico caratteristico). I siti della latenza virale sono rappresentati da cellule epiteliali, monociti e cellule endoteliali.
3. γ -herpesviridae: EBV ed HHV-8. Il tropismo tissutale di questi virus come pure la sede di latenza sono limitati a cellule linfoidi.

REPLICAZIONE

Il genoma, DNA a doppia elica lineare, codifica per 70-200 polipeptidi. Oltre a segmenti unici, esso comprende sequenze palindromiche, poste all'estremità 3' e 5' e, in molti casi, anche zone interne che consentono la formazione di 2 o 4 forme isomeriche del genoma.

La replicazione avviene mediante la formazione di strutture concatameriche che si replicano secondo il modello del cerchio rotante.

La replicazione avviene nel nucleo dove avviene anche la trascrizione virale ad opera della RNA polimerasi cellulare.

L'espressione del genoma virale avviene in tre fasi, in cui sono espressi prima i geni precocissimi (alfa), poi i geni precoci (beta) ed infine i geni tardivi o strutturali (gamma).

La sintesi del DNA virale avviene tra l'espressione delle funzioni beta e gamma.

Il montaggio dei nucleocapsidi avviene nel nucleo ed i virioni maturano nel passaggio attraverso la membrana nucleare acquisendo così l'involucro lipidico.

Successivamente i virioni sono trasportati all'esterno della cellula, transitando attraverso il **r e t i c o l o** endoplasmatico.

PATOGENESI

Essendo virus molto ben adattati all'ospite, gli herpesvirus raramente inducono patologie gravi, fatta eccezione per i soggetti debilitati nei quali l'infezione può essere letale.

L'infezione primaria viene acquisita per contatto interumano, attraverso la trasmissione di secrezioni infette o, talora, mediante introduzione di sangue o materiale biologico infetto (anche trapianti allogenici).

L'infezione primaria può essere localizzata (HSV) o generalizzata (VZV, CMV, EBV, etc.).

Dopo l'infezione primaria il virus raggiunge direttamente (percorso neuronale), o mediante viremia, la sede di latenza nella quale rimane a lungo inespresso.

A seguito di vari stimoli (anche un solo temporaneo stato di immunosoppressione) l'infezione può riattivarsi, determinando la disseminazione del virus, per via assonale o ematica, raggiungendo la sede della manifestazione ricorrente che varia da virus a virus.

Le infezioni che diffondono per via ematica (es. quella da CMV) possono essere trasmesse, sia in occasione di infezione primaria che di infezione ricorrente, al feto determinando patologie di varia gravità a seconda che la trasmissione avvenga per via transplacentare in epoca precoce oppure al momento del parto.

DIFESE DELL'OSPITE

La cute rappresenta di per sè una barriera efficace a meno della presenza di lesioni.

Altre difese aspecifiche sono rappresentate dal sistema interferon riescono talora a limitare la diffusione del virus.

Le immunoglobuline secretorie presenti a livello delle mucose hanno pure una tale azione di controllo.

Le immunoglobuline circolanti possono limitare la diffusione del virus a regioni distali in caso di viremia, ma le infezioni erpetiche che diffondono per via neuronale sono piuttosto resistenti agli anticorpi circolanti.

Quando il virus raggiunge l'encefalo, le difese sono generalmente inefficaci e l'esito è spesso fatale.

Un ruolo chiave nel controllo del mantenimento della latenza viene attribuito all'immunità cellulare.

EPIDEMIOLOGIA

Quelle da virus erpetici sono infezioni largtamente diffuse nella popolazione umana, dove non determinano in genere patologie gravi.

La maggior parte delle infezioni da herpesvirus vengono acquisite in età precoce, in maniera sovente asintomatica e la maggior parte degli individui adulti presenta, quindi, anticorpi specifici contro un gran numero di herpesvirus.

LA TRASMISSIONE O LA RIATTIVAZIONE DI UN'INFEZIONE ERPETICA RIVESTONO UNA GRANDE IMPORTANZA NEI SOGGETTI IMMUNOCOMPROMESSI, CHE SONO A RISCHIO DI GRAVI COMPLICANZE E, QUINDI, VANNO SOTTOPOSTI A MONITORAGGIO SPECIFICO E AD EVENTUALE PROFILASSI.

HERPES SIMPLEX

Esistono due sierotipi di HSV, 1 e 2, molto simili geneticamente, dal punto di vista antigenico, biologico e clinico anche se il sierotipo 1 dà prevalentemente infezioni del distretto cefalico mentre il 2 infezioni genitali.

La trasmissione di HSV avviene per stretto contatto interumano attraverso le secrezioni e dopo un breve periodo di incubazione si manifestano i segni dell'infezione a livello della superficie mucocutanea sede della prima replicazione virale.

Per quanto riguarda HSV1 abbiamo una localizzazione orofaringea con gengivostomatite spesso accompagnata da febbre, edema ed eritema faringeo, lesioni vescicolari a grappolo, tipica dell'infanzia.

Per quanto riguarda HSV2 abbiamo una localizzazione primaria a livello delle mucose genitali con comparsa di vescicole accompagnate incostantemente a febbre e linfadenopatia inguinale.

Entrambi i sierotipi possono generare una prima infezione a livello delle mucose oculari determinando affezioni che, recidivando, possono danneggiare permanentemente il virus (cheratocongiuntivite erpetica).

L'infezione primaria perinatale può estendersi a zone mucocutanee multiple, può essere disseminata per via ematogena a vari organi o può

raggiungere per via neuronale il nevrasso generando una encefalite spesso fatale.

Il percorso intrassonale (retrogrado) è caratteristico di HSV, riguarda i nervi sensitivi ed esita nell'instaurazione di uno stato di latenza nelle cellule gangliari delle radici posteriori.

Gli episodi di riattivazione sono caratterizzati da una ripresa della replicazione virale e da un percorso anterogrado del virus lungo le fibre sensitive fino a raggiungere il distretto mucocutaneo ove si manifestano le caratteristiche lesioni vescicolari.

La riattivazione, nel caso di herpes labiale, oculare e genitale è accompagnata da disseminazione del virus nell'ambiente ma può essere spesso asintomatica.

Le manifestazioni cliniche dell'infezione da HSV, sia in caso di infezione primaria che ricorrente, possono avere presentazione clinica abnorme e grave nell'ospite immunocompromesso soprattutto in presenza di deficit dell'immunità cellulo-mediata (polmoniti, encefaliti, esofagiti, epatiti, coliti e malattia cutanea disseminata).

CITOMEGALOVIRUS (CMV)

Famiglia: Herpesviridae

Sottofamiglia: Betaherpesvirinae

Caratteristiche:

- lungo ciclo replicativo
- stretto spettro d'ospite
- latenza in varie cellule
(monociti, epitelio tubuli renali,
epitelio ghiandole salivari)

Infezione endemica e ubiquitaria:

nei paesi industrializzati **40-80% sieropositivi**
in quelli in via di sviluppo **la quasi totalità**

L'uomo è l'unico reservoir per CMV umano

La trasmissione richiede uno stretto contatto

Fonti di infezione: secrezioni oro-faringee, urina, secrez. cervicali e vaginali, sperma, latte materno, lacrime, feci, sangue.

La trasmissione è favorita dall'eliminazione molto prolungata del virus e dal decorso in larga parte asintomatico o paucisintomatico dell'infezione.

Dopo la diffusione del vaccino per la rosolia, CMV è diventato la causa principale di infezione congenita nei paesi sviluppati: 0,3-2% dei nati vivi. In Italia abbiamo un'incidenza dell'1.1% (ogni anno su 500.000 nati vivi, 5.500 hanno infezione da CMV e di questi circa 1.500 avranno sindromi cliniche da).

Tra i gli infetti congeniti solo il 20-30% è sintomatico (per i sintomi vedi tab. Boppana et al.). Il 70-80% è asintomatico, ma 10-15% di questi presenteranno segni tardivi: ritardo mentale, ipoacusia mono o bilaterale, corioretinite, microcefalia.

L'1-15% dei neonati acquisisce l'infezione durante la nascita o nei primi periodi di vita neonatale
(rare sequele)

Ad 1 anno di vita l'1-40% dei bambini ha acquisito l'infezione ed elimina virus, con saliva e urine, per periodi di tempo anche molto lunghi.

Negli adulti, modalità di trasmissione: bacio, contatti sessuali, contatti con bambini (nel personale degli asili nido: 8-20% di infezioni, vs 3-5% nel resto della popolazione).

Nelle gravide la maggior parte delle infezioni da CMV è asintomatica o con sintomi aspecifici (febbricola persistente, mialgia, adenomegalia), linfocitosi atipica e modesto rialzo delle transaminasi.

L'infezione congenita viene acquisita per via transplacentare:

leucociti materni infetti

infez. produttiva dei trofoblasti placentari

viremia fetale

invasione e replicaz. produttiva organi bersaglio

(SNC, fegato, orecchio interno, midollo spinale, rene, epitelio dei dotti e l'endotelio vascolare)

il virus eliminato con la diuresi può essere ingerito dal feto, replicarsi nell'epitelio oro-faringeo, da cui nuova disseminazione ematica

La trasmissione materno-fetale può aversi con la stessa frequenza durante tutti e tre i trimestri di gravidanza, con un maggior rischio di grave prognosi fetale che va dalla 1^a alla 27^a settimana.

La trasmissione materno-fetale è legata principalmente all'infezione materna primaria che presenta un rischio di trasmissione tra il 24 e il 75% (valore medio 40%).

Casi di trasmissione materno-fetale conseguenti ad infezione materna non primaria sono stati riportati nello 1-2.2% dei casi.

Dati molto recenti indicherebbero che la trasmissione intra-uterina del virus avvenga preferenzialmente durante le reinfezioni e non durante la riattivazione dello stivite virale latente (Britt WS, comunicazione personale).

LA RISPOSTA UMORALE MATERNA

L'immunità umorale materna (il titolo anticorpale IgG anti-gB) è maggiore nelle donne che trasmettono rispetto a quelle che non trasmettono l'infezione.

N.B. La gB è il maggior componente glicoproteico dell'envelope ed il maggior target degli Ab prodotti contro l'envelope e con attività neutralizzante il virus).

Pertanto sembra che il titolo anticorpale rilevabile non sia sinonimo di protezione ma

possibilmente rifletta un livello di replicazione virale maggiore e più prolungato nel tempo.

Significativamente più alta risulta anche la risposta IgM. In uno studio è stato dimostrato che le IgM di donne che hanno trasmesso l'infezione al feto/neonato reagiscono con un numero di proteine virali superiore al numero di proteine riconosciute dalle IgM di sieri da donne che non trasmettono, correlando ciò ad una maggiore produzione virale (Lazzarotto T. e coll.).

Infine, lo studio della risposta anticorpale nelle donne a rischio di trasmettere l'infezione ha evidenziato un differente grado di avidità delle IgG.

Il fallimento o il ritardo della maturazione degli anticorpi e/o della produzione di anticorpi neutralizzanti potrebbero determinare un prolungamento della fase di disseminazione virale materna e quindi un maggiore rischio di localizzazione del virus in altri tessuti o organi, inclusa la placenta. Questo potrebbe aumentare la probabilità della trasmissione del virus al feto.

ETA' MATERNA

Il rischio di infezione congenita da CMV è più alto nelle adolescenti.

Tra gli 11 e i 14 anni, l'eliminazione di CMV con urine e secrezioni cervicali varia dall'8 al 15%, quindi decresce gradatamente nelle età successive fino a raggiungere quasi lo zero nelle donne con età superiore ai 30 anni.

Fattori importanti nel determinare il rischio sono:

- più recente esposizione al virus (fattore età)**
- razza (bianca o nera, % diverse in studi USA)**
- numero di partners sessuali**

EFFETTI DELL'INFEZIONE CONGENITA NEL NEONATO.

IL 30% dei neonati infetti presenta sintomi alla nascita, con mortalità perinatale del 30% ed importanti sequele neurologiche nella maggior parte di coloro che sopravvivono.

Quadro clinico: epatiti isolate o sindromi polivisceritiche con ittero severo, porpora trombocitopenica, epatosplenomegalia, polmonite ed encefalite.

Forme clinicamente attenuate: problemi epatici, porpora, epatosplenomegalia e ritardo nell'accrescimento. Le anomalie strutturali riguardano per lo più il SNC (ventricolomegalia, calcificazioni intra-craniche, microftalmia) e meno il tratto gastroenterico. Sono anche da segnalare danni visivi e uditivi di vario grado.

Anche il 5-15% dei nati asintomatici presenta sequele a distanza (ritardo mentale e sordità). La perdita dell'udito è bilaterale nel 50% dei casi e genera deficit nel linguaggio e nell'apprendimento tanto maggiori quanto più la diagnosi è ritardata.

Sebbene non vi sia una precisa definizione della morbilità dell'infezione congenita asintomatica e sintomatica per la mancanza di dati provenienti da follow-up post-natali prolungati, possiamo concludere che circa il 20-25% dei neonati infettati congenitamente presenterà problemi di varia gravità alla nascita e/o nel corso della propria vita.

DIAGNOSI DI LABORATORIO

Per la diagnosi è importante soprattutto se lo stato sierologico pre-gravidico sia conosciuto o non conosciuto.

Stato sierologico pre-gravidico conosciuto

SIEROPOSITIVE PRIMA DEL CONCEPIMENTO = rischio di infezione fetale $< 1\%$, e anche quando avvenisse la trasmissione, il rischio per il feto è molto basso.

Pertanto non vengono consigliati in gravidanza screening particolari.

SIERONEGATIVE PRIMA DEL CONCEPIMENTO = suscettibili di infezione primaria da CMV.

Queste devono:

- essere istruite su norme comportamentali e igieniche da seguire in gravidanza;
- eseguire controlli sierologici (ricerca IgG CMV-specifiche) mensili fino alla 18^a settimana, e se c'è sieroconversione si fa diagnosi di inf. primaria. Se la sieronegatività permane oltre le 18^a settimana, si fa un solo ed ultimo controllo a 34-37 settimane.

Stato sierologico pre-gravidico non conosciuto

La diagnosi di infezione da CMV è complessa. Si ricercano di solito le IgM specifiche ma i kit in commercio destano ancora qualche perplessità (concordanza dal 56 al 75% con sensibilità oscillante tra il 30 e l'88%. Nuovi kits che utilizzano una mistura di Ag di CMV da ricombinante sembrano più attendibili.

Tuttavia bisogna considerare che le IgM anti-CMV sono un buon indicatore di infezione acuta o recente, ma non sono correlabili ad una infezione primaria. Infatti, <10% delle IgM positive infetta congenitamente il feto o il neonato. Le IgM nelle gravide sono prodotte nel 100% dei casi di infezione primaria e nel 70% dei casi di riattivazione o reinfezione. Inoltre, in alcune gravide le IgM anti-CMV sono state ritrovate anche alcuni mesi (6-9) dopo l'esaurimento della fase acuta e che per questo tipo di indagine risultano numerosi casi di falsa positività.

IDENTIFICAZIONE DI INFEZIONE PRIMARIA

IDENTIFICAZIONE DI INFEZIONE PRIMARIA

I test di avidità delle IgG anti-CMV rappresentano la procedura commerciale più affidabile a tal fine.

Indici di avidità bassi = infezioni virali primarie in fase acuta o recente.

Indici di avidità alti = assenza di infezione primaria in atto o recente.

Nei soggetti immunocompetenti indici di bassa avidità si riscontrano per 18-20 sett. dall'inizio della sintomatologia.

In più del 90% di immunocompetenti e non, le IgG per CMV sono a bassa avidità mentre non vengono mai ritrovate a bassa avidità nelle infezioni non primarie.

Per quanto riguarda le procedure virologiche per l'accertamento dell'infezione primaria, l'antigenemia, la viremia e l'isolamento dalle urine sono state associate ad infezione primaria in fase acuta.

La PCR nei PMNs è positiva nella quasi totalità delle infezioni primarie nei primi 1-2 mesi. Una positività per > 3 mesi non correla con un più alto rischio di infezione fetale.

DIAGNOSI PRENATALE

Consigliata nelle donne che hanno contratto una infez. primaria o indeterminata da CMV nella prima metà della gravidanza e a tutte quelle con accertata viremia nello stesso periodo di tempo, in quanto nel 70% dei casi risulterà negativa e quindi consentirà alla gravida di essere più serena nel proseguimento della gravidanza, nel 30% dei casi sarà positiva ma solo in 1/3 di essi si evidenzierà un alto numero di genomi virali indice di rischio per il neonato.

La diagnosi prenatale si propone di rilevare l'infezione *in utero* mediante prelievo di liquido amniotico (LA) eseguito in 21a-22a settimana di gestazione.

Sia l'antigenemia che la ricerca di DNA di CMV mediante PCR vanno eseguite nel LA piuttosto che nel sangue fetale. Va però tenuto presente che l'isolamento virale da LA ha una sensibilità relativamente bassa (62,5%) con possibilità di falsi negativi; d'altro canto la predittività positiva della PCR su LA rispetto alla trasmissione dell'infezione è inferiore al 50%.

La trasmissione intrauterina del virus non necessariamente causa una malattia al feto.

Recenti dati sull'analisi quantitativa del DNA virale (PCR quantitativa) nel LA hanno mostrato che elevati carichi virali possono identificare feti ad alto rischio di sviluppo di infezioni severe.

RISCHIO DI TRASMISSIONE MOLTO BASSO
< 10³ genomi equivalenti/ml (GE/ml)

SICURA INFEZIONE CONGENITA
> 10³ genomi equivalenti/ml (GE/ml)

FETI AD ALTO RISCHIO DI INFEZIONE SINTOMATICA
10⁵ genomi equivalenti/ml (GE/ml)

Vedi schema follow-up diagnostico.

TERAPIA

Sono allo studio vari farmaci antivirali a bassa tossicità fetale ma i relativi trials clinici non sono ancora stati approvati.

Il ganciclovir è stato escluso per la sua potenziale tossicità e mutagenicità.

L'uso di immunoglobuline iperimmuni per CMV è stato proposto ma i risultati ottenuti nella scarsa sperimentazione a riguardo non consentono di trarre conclusioni definitive sulle sua efficacia.

CONCLUSIONI

La maggior parte delle infezioni materne da CMV sono asintomatiche pertanto per l'approccio diagnostico è importante il laboratorio.

La trasmissione materno-fetale è legata all'infezione materna primaria (rischio molto basso nelle forme non primarie).

La diagnosi di infezione da CMV è complessa nelle donne che non conoscono il loro stato sierologico pre-gravidico. In tali casi si ricercano le IgM e se c'è positività si eseguono i test di avidità delle IgG e la PCR quantitativa su LA.

VIRUS DELLA ROSOLIA

Genere Rubivirus

Famiglia Togavirus

Piccoli virus con envelope, con capside icosaedrico e con genoma ad RNA a singolo filamento e polarità positiva.

Proteine importanti:

- singola proteina capsidica fosforilata (C) PM ca. 33 kd

- due proteine glicosilate nell'envelope: E1 (forma monomerica PM ca. 58kd, forma dimerica E1-E1 PM 105kd, forma eterodimerica E1-E2) ed E2 (PM 42-48 kd) che in parte è coperta da E1. Queste costituiscono l'antirecettore che reagisce con un recettore cellulare e media l'attacco e quindi l'entrata per endocitosi del virus nella cellula.

Agente etiologico della Rosolia, malattia esantematica maculopapulare lieve ad evoluzione benigna, caratterizzata da febbre, faringodinia e linfadenopatia retroauricolare e laterocervicale, le cui complicazioni comprendono, specie nell'adulto, artralgie e artriti.

- 1941** Norman McAlister Gregg nota elevata frequenza di difetti congeniti (cataratta e malattie cardiache) in nati da madri che avevano contratto la rosolia durante la gestazione.
- 1962** isolamento del virus in colture cellulari e selezione di un ceppo attenuato vaccinicco.
- 1969** inizio profilassi vaccinale: la rosolia congenita diventa rara nei paesi che hanno effettuato la profilassi vaccinica.

La rosolia è distribuita in modo uniforme in tutto il mondo sia pure con una certa variabilità.

Il virus viene diffuso tramite le secrezioni nasofaringee del soggetto infetto che è contagioso da 4-5 giorni prima a 3-5 giorni dopo la comparsa dell'esantema.

Nei paesi industrializzati a clima temperato, l'infezione naturale avviene tra i 5 ed i 9 anni di età e coinvolge circa l'80% dei soggetti entro il 15° anno di vita. Essa conferisce immunità duratura.

Essendo malattia poco contagiosa, però, un 15% dei soggetti tra i 20 ed i 30 anni può trovarsi sprovvisto di anticorpi neutralizzanti.

Gli Ab predominanti nella fase iniziale della malattia sono le IgM, specifiche soprattutto per la E1, che possono durare anche 1 anno dopo la fase acuta; Le IgG sono anche precoci e perdurano a lungo. Anche le IgA, IgE e IgD sono formati entro una settimana dall'esordio: le IgA sieriche sono di breve durata e dirette verso la proteina C.

Nel caso di una possibile reinfezione si hanno movimenti sierologici ma il rischio di rosolia congenita è basso per azione di controllo degli Ab materni.

L'infezione primaria in gravidanza invece può determinare gravi danni congeniti nel bambino. Durante la viremia, il virus raggiunge la placenta, determina una vasculite e quindi una placentite e, come spesso accade nel 1° mese di gestazione, invade i tessuti fetali in corso di differenziazione.

L'embriopatia rubeolica è la conseguenza della tendenza del virus a dare infezioni persistenti con conseguente danno cromosomiale e successiva e prolungata escrezione del virus da parte del neonato. La persistenza prolungata del virus nei tessuti fetali non è controllabile dalla risposta immunitaria materna nè dagli Ab prodotti dal feto in utero.

L'infezione rubeolica contratta in gravidanza non sempre coinvolge il feto e quindi non sempre determina il danno.

Infezione materna nel 1° trimestre = 80-90% infezione della placenta e 70% dell'embrione (controllo risposta immune specifica materna). Conseguenze che vanno dall'aborto spontaneo alla nascita di un neonato asintomatico anche se con presenza di IgM ed escrezione prolungata di virus. Con più frequenza però si possono avere: sordità, malattie cardiache (dotto arterioso persistente e vari difetti valvolari, etc.), danni oculari (cataratta, corioretiniti, glaucoma, microftalmia), microcefalia, alterazioni ossee, meningoencefalite, epatosplenomegalia, ritardo di crescita (alcune di queste possono risolversi nel primo mese di vita). Altre sequele tardive comprendono il diabete mellito, la polmonite cronica, la tiroidite e la panencefalite a lenta evoluzione.

ROSOLIA CONGENITA = continua moltiplicazione ed escrezione di virus fino ad 1-3 anni dalla nascita; triade di Gregg (cataratta, sordità, difetti cardiaci).

L'incidenza dei difetti congeniti è $>50\%$ se l'infezione è contratta nel 1° mese e si riduce all'1% dopo il 4° mese.

La letalità nel primo anno di vita, conseguente a rosolia congenita con sintomatologia cardiaca, si aggira intorno al 35%. Un terzo dei sopravvissuti ha una vita normale, mentre i restanti necessitano cure intensive e durature. Il feto infettato in utero inizia a produrre sia IgM che IgG e continua a farlo a lungo anche dopo la nascita.

DIAGNOSI è essenzialmente clinica, ma il laboratorio è indispensabile per la diagnosi definitiva.

Utili l'isolamento e la PCR, ma la sierologia è l'approccio diagnostico di scelta. Infatti, a seguito di infezione primaria, gli anticorpi specifici IgM, IgA e IgG sono svelabili piuttosto precocemente mediante varie tecniche (neutralizzazione, emoagglutinoinibizione, fissazione del complemento, immunofluorescenza, RIA, ELISA). L'emoagglutinoinibizione rimane comunque di scelta per valutare la validità di ogni altra metodica alternativa.

Con il test ELISA: >15 UI/ml IgG specifiche = livello di protezione (vedi schema sierologia/tempo).

Per la diagnosi sia di infezione rubeolica acquisita che per quella congenita l'approccio diagnostico principale é rappresentato dalla sierologia ma é fondamentale la conoscenza dello stato sierologico pre-gravidico.

In seguito al sospetto di infezione primaria della gestante per esposizione al contagio o per la comparsa dell'esantema, con presenza di IgM specifiche ed elevato incremento delle IgG, si pone il problema dell'accertamento dell'infezione intrauterina e della diagnosi prenatale di rosolia. Naturalmente il problema deve essere affrontato in relazione all'età gestazionale della madre ed alla probabilità di rischio fetale.

Reperto di IgM specifiche nel sangue fetale prelevato tramite funicolocentesi già alla 16 settimana. Tra la 15 e la 18 settimana si può tentare l'isolamento dal liquido amniotico o con più successo eseguire la PCR. Dalla 9 alla 11 settimana l'RNA del virus può essere evidenziato tramite PCR a livello dei villi coriali.

Oggi la positività PCR su tessuto fetale così come il riscontro di IgM nel sangue fetale vengono considerati criteri validi per suggerire una eventuale interruzione della gravidanza, sebbene **TALI RISCONTRI NON INDICANO NECESSARIAMENTE L'EVENIENZA DEL DANNO.**

Le stesse metodiche possono essere usate per la diagnosi di rosolia congenita nel neonato.

L'abbondante presenza di virus nel sangue, nelle urine, e nelle secrezioni respiratorie del neonato, il riscontro di IgM specifiche già alla nascita e la prolungata e marcata elevazione delle IgG rendono facile la diagnosi di rosolia congenita.

Differenza fondamentale tra l'infezione intrauterina asintomatica e la rosolia congenita sembra essere la seguente:

sia nella madre che si reinfetta sia nel bambino asintomatico, nato da madre con infezione primaria, la risposta umorale è normale con presenza di IgG ad alta avidità, di Ab specifici per E2 e di Ab neutralizzanti per E1. Tutte queste risposte immunologiche risultano invece molto meno efficienti nel bambino nato con rosolia congenita.

VACCINI vi sono diversi ceppi virali attenuati:

HPV-77 (ottenuto dal 77° passaggio in cellule renali di scimmia)

Ceppo Cendehill (mantenuto in cellule renali di coniglio)

Ceppo RA27/3 (attenuato in seguito a ripetuti passaggi in cellule diploidi umane). E' il + usato. Induce la comparsa di anticorpi protettivi nel 95% dei vaccinati, non è pericoloso tranne che per l'occasionale e transitoria comparsa di artralgie nel 10-30% delle donne adulte. Il virus vaccinico non viene trasmesso ai contatti non immuni. La vaccinazione è controindicata durante la gestazione e 2-3 mesi prima della gravidanza per il rischio teorico della trasmissione del virus al feto.

Profilassi vaccinale con strategia diversa negli USA ed in Europa, rispettivamente in età prescolare ed in età prepubere.

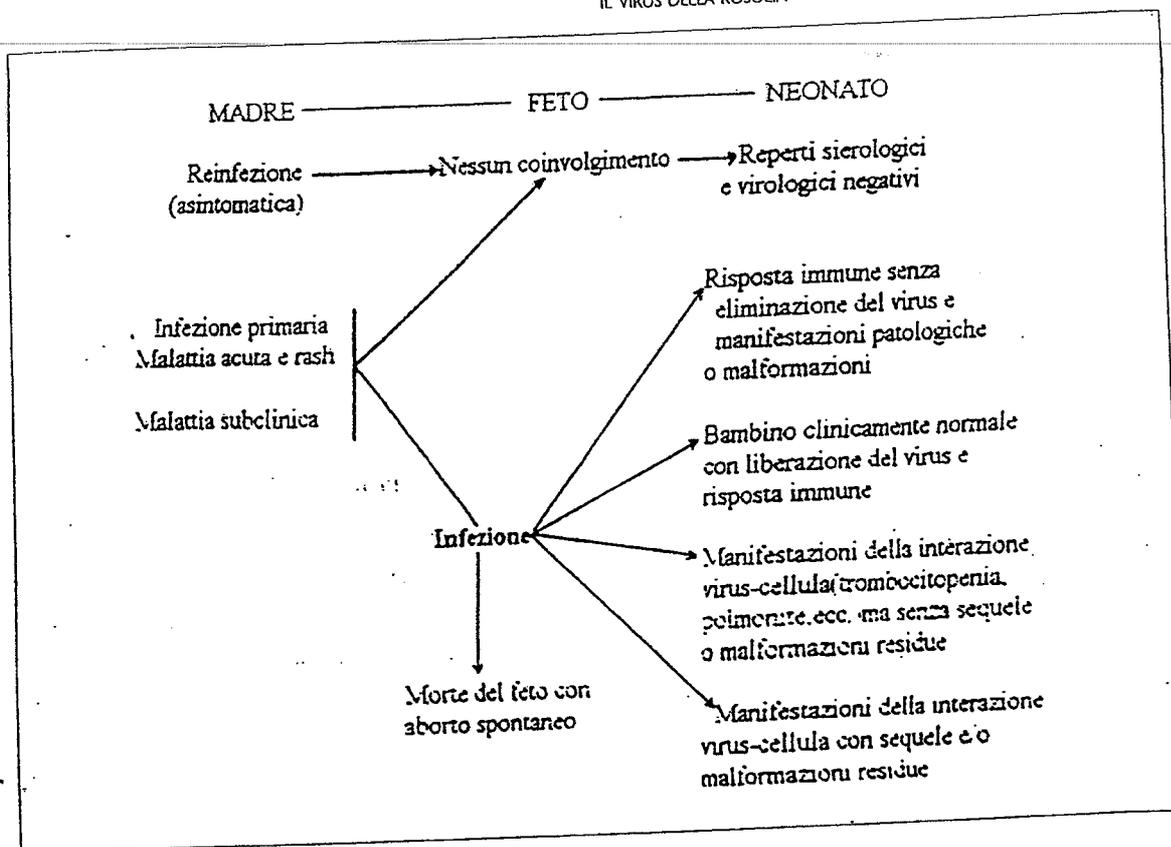


Figura II. Patogenesi dell'infezione rubeolica in gravidanza.

del feto, considerate manifestazioni transitorie che, di norma, si risolvono entro il mese di vita (11) (tabella 1). La rosolia congenita è caratterizzata dalla continua moltiplicazione ed escrezione del virus che può perdurare oltre un anno dopo la nascita, ma che a livello di qualche organo è stata dimostrata anche 3-4 anni dopo la nascita. Alcune manifestazioni dell'infezione rubeolica congenita insorgono o si manifestano tardivamente come risultato della continua moltiplicazione virale, di processi di riattivazione, della formazione di immunocomplessi e di autoanticorpi. Tra queste possiamo annoverare il diabete mellito, la polmonite cronica, la tiroidite, la pancreatite a lenta evoluzione; malattie di patogenesi incerta ma per le quali il virus rubeolico gioca un ruolo importante. Ad esempio, nel caso del diabete mellito insulino-dipendente è stato ipotizzato che la persistenza del virus a livello delle cellule pancreatiche sia in grado di innescare un danno autoimmune in soggetti geneticamente predisposti; tale ipotesi è supportata dal riscontro di anticorpi nelle insule pancreatiche e dalla aumentata frequenza degli antigeni HLA DR3 e DR4 tra i soggetti con diabete. Nel caso di lesioni delle arterie renali, polmonari e coronarie il danno sembra dovuto alla moltiplicazione del virus negli endotelii e quindi alla formazione di lesioni ostruttive.

Manifestazioni cliniche

Le manifestazioni cliniche della rosolia congenita non sono uniformi per gravità e per frequenza: variano dalla classica triade di Gregg (cataratta, sordità, difetti cardiaci) al decorso asintomatico, in cui chiari danni non sono facilmente e prontamente rilevabili. Il rischio dell'azione teratogena del virus risulta comunque correlato al periodo gestazionale in cui la madre contrae l'infezione primaria. Il rischio maggiore si verifica nel primo trimestre della gravidanza; studi epidemiologici condotti negli anni '60, sia negli Stati Uniti che in altre nazioni (24, 44), hanno valutato che l'incidenza dei difetti congeniti è maggiore del 50% se l'infezione viene contratta nel primo mese e si riduce a meno dell'1% dopo il quarto mese (tabella 2). Raramente l'infezione materna contratta dopo la 22ª settimana di gestazione comporta un'infezione cronica del feto, così come estremamente bassa è la probabilità che si verifichi l'infezione dell'embrione quando l'infezione della madre si verifica 4-6 settimane prima della gravidanza (14). La letalità nel primo anno di vita, conseguente alla rosolia congenita con sintomatologia tardiva, si aggira intorno al 35%. Dagli studi di follow-up eseguiti in seguito alla epidemia insorta negli Stati Uniti nel 1964/65 è stato calcolato che un terzo dei sopravvissuti ha una vita normale;

X **Tabella 1.** Frequenza delle anomalie congenite da infezione rubeolica

Difetti oculari	
Cataratta	30-50%
Retinopatia	30-50%
Microftalmia	20-30%
Glaucoma	<20%
Anomalie cardiovascolari	
Stenosi dell'arteria polmonare	50-80%
Dotto arterioso persistente	30-50%
Stenosi valvolari	20-30%
Difetti nei setti ventricolari	<20%
Sordità	
Alterazioni neurosensoriali	50-60%
Alterazioni ossee	
Alterazioni ematologiche	20-40%
Alterazioni ematologiche	
Porpora trombocitopenica	30-50%
Anemia	<20%
Alterazioni viscerali	
Epato-splero-megalia	60-80%
Polmonite interstiziale	30-50%
Miocardite	<20%
Meningoencefalite	30-50%
Altre alterazioni	
	rare

mentre i restanti necessitano di cure intensive e durature (40). In seguito all'infezione intrauterina il feto comincia a produrre anticorpi specifici, sia IgM che IgG, e la loro produzione continuerà a lungo anche dopo la nascita.

DIAGNOSI

La diagnosi di rosolia acquisita di solito viene effettuata clinicamente sulla base del riscontro della sintomatologia più comune, esantema, linfadenopatia, modesta piressia. Tuttavia, poiché altri agenti infettivi, sia virali (adenovirus, enterovirus, parvovirus) che batterici (streptococchi), possono determinare una sindrome molto simile, l'accertamento diagnostico di laboratorio risulta indispensabile per una definitiva diagnosi di rosolia. Malgrado il virus sia presente nel faringe alcuni giorni prima e 5-6 giorni dopo la comparsa dell'esantema, il suo isolamento in colture cellulari risulta indaginoso e richiede molto tempo; per cui non viene preso in considerazione per una diagnosi di routine. Solamente nei rari casi di complicanze gravi, riconducibili ad una sospetta infezione acuta rubeolica, o nel caso della rosolia congenita l'isolamento virale può dare indicazioni valide. Tale indagine può ormai essere supportata dalle più recenti procedure di diagnostica virologica bio-

Tabella 2. Rischio di embriopatia rubeolica in rapporto al periodo gestazionale

INFEZIONE MATERNA (SETTIMANE DI GESTAZIONE)	DIFETTI OCULARI
1-4	>50%
5-8	30-40%
9-12	10-20%
13-16	<10%
>17	<1-5%

molecolare che si basano sull'isolamento ed identificazione del genoma virale in seguito a processi di amplificazione. PCR

L'indagine sierologica risulta comunque l'approccio diagnostico di scelta per fare una diagnosi rapida d'infezione rubeolica recente. Infatti in seguito all'infezione primaria gli anticorpi IgM, IgA e IgG nei confronti del virus sono svelabili piuttosto precocemente e possono essere messi in evidenza con diverse metodiche, in relazione alla qualità e alla purezza degli antigeni virali disponibili e tenendo conto della diversa cinetica delle varie classi anticorpali nei confronti di questi. Numerose metodiche sono state utilizzate in laboratorio per evidenziare gli anticorpi nei confronti del virus della rosolia: la reazione di neutralizzazione (NT), di emoagglutinazione (HI), di fissazione del complemento (CF), di emoagglutinazione passiva (PHA), di agglutinazione passiva al latex (LA), di emolisi radiale in gel (RE), di immunofluorescenza indiretta (IFA), tutte con caratteristiche di specificità, di validità non uniformi, e oggi quasi tutte sostituite dai più sensibili e più specifici test radioimmunologici (RIA) ed immunoenzimatici (ELISA), questi ultimi ormai sempre più diffusamente utilizzati a scopo diagnostico per la facilità e la rapidità di esecuzione (35, 42, 43, 61, 69) (figura III). Il test HI, per quanto non più routinariamente utilizzato per la difficoltà di eliminare dai sieri in esame la presenza di eventuali inibitori beta-lipoproteici, rimane comunque il test di riferimento per verificare la validità di ogni altra metodica alternativa, in quanto presenta una buona correlazione con i risultati della reazione di neutralizzazione. Importante in tal senso risulta la conoscenza della quantità minima di anticorpi che determina lo stato immunitario ed esprimere i valori in Unità Internazionali per ml, dato che anticorpi nei confronti delle proteine E1, E2 e C appartenenti alle diverse classi immunoglobuliniche sono presenti nei sieri immuni policlonali; con il test ELISA il livello di IgG specifiche in grado di conferire protezione è di almeno 15 UI/ml (3). La diagnosi di infezione primaria da virus della rosolia viene fatta sulla base del riscontro delle IgM specifiche, utilizzando preferibilmente sistemi ELISA a cattura, che durano in circolo mediamente 8-12 settimane (20); a tale indagine po-

*diagnosi
di rosolia
intra
uterina*

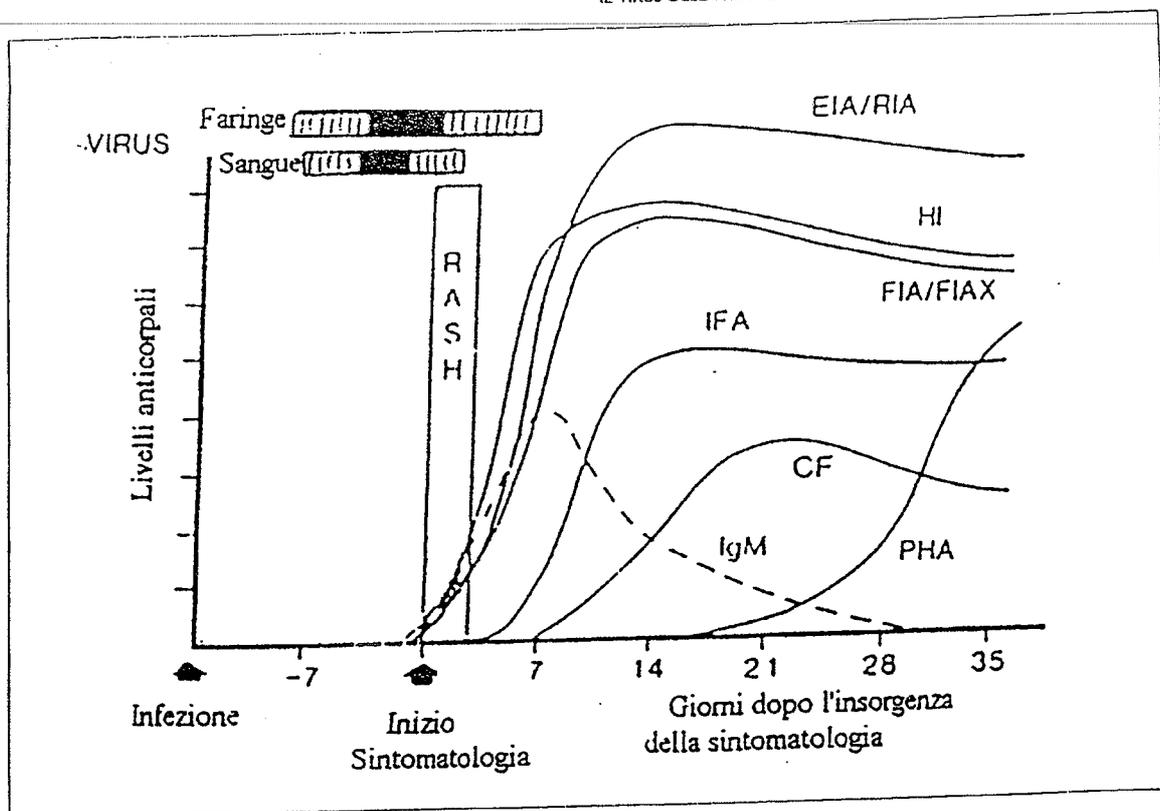


Figura III. Schema della risposta immune nell'infezione rubeolica primaria. Le sigle indicano la dinamica degli anticorpi rilevabili con differenti metodiche di laboratorio. (da Hermann KL. Rubella virus. In: *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections*. Lennette E, Schmidt NJ Eds, American Public Health Association, Washington DC 1979; 731-47).

trebbe essere associata la ricerca delle IgA seriche specifiche, che sono rivolte principalmente verso la proteina C (58), per accertare risultati IgM falsi-positivi dovuti alla presenza del fattore reumatoide (IgM anti IgG). Anche la ricerca e la quantizzazione delle IgG specifiche in due campioni di siero, prelevati precocemente e a distanza di 10-20 giorni l'uno dall'altro, può aiutare a distinguere un'infezione primaria, purché i campioni vengano saggiati contemporaneamente e si dimostri un incremento del titolo anticorpale di almeno quattro volte o nel caso del saggio immunoenzimatico un significativo aumento delle UI.

Diagnosi di infezione primaria in gravidanza

Risulta naturalmente importante accertare con sicurezza un'eventuale infezione primaria nella donna in gravidanza per le implicazioni che una tale evento comporta. La conoscenza dello stato immunitario pre-gravidico della madre è sempre auspicabile perché, anche se la gestante dovesse andare soggetta ad una reinfezione per la mancanza di IgG specifiche a valori protettivi (>15 UI/ml), l'evenienza del danno teratogeno sarebbe estremamente rara. Tuttavia se una modesta presenza di IgM, in presenza di valori elevati di IgG, dovesse determinare il sospetto di un'infezione primaria recente, il test di avidità delle IgG, la ricerca

delle IgA e la identificazione degli anticorpi nei confronti del virus rubeolico, eliminare la possibilità di risultati IgM falsi-positivi (per reattività crociate con parvovirus B19, citomegalovirus e virus di Epstein-Barr) e identificare un'eventuale protratta persistenza in circolo di IgM specifiche prodotte durante una pregressa infezione primaria (24, 36, 68). Nonostante la possibilità dell'isolamento virale e la disponibilità di tecniche di amplificazione del genoma virale (PCR) la sierologia rimane l'approccio diagnostico principale sia per l'infezione rubeolica acquisita che per quella congenita. Purtroppo non sempre è facile interpretare serenamente una positività IgM nei confronti del virus della rosolia, poiché spesso tale riscontro si verifica occasionalmente solo quando, dopo la prima visita ostetrica (spesso al 3° mese di gravidanza), viene richiesto alla gestante lo screening per gli agenti TORCH: in questo caso non è utilizzabile il test di avidità delle IgG, in quanto anticorpi a bassa avidità risultano presenti in circolo mediamente per appena 50 giorni dall'inizio del processo infettivo (6). Tuttavia è da osservare che, qualora non si fosse in grado di decifrare con approcci diagnostici ausiliari il significato della presenza delle IgM, il loro riscontro, costante nel corso di 4 o più settimane, senza variazioni significative e in genere a livelli non particolarmente elevati, dovrebbe far pensare ad una persistenza delle

VIRUS VARICELLA-ZOSTER

La tipica manifestazione clinica primaria è un'esantema vescicolare chiamato varicella.

L'infezione è estremamente diffusa e contagiosa e si trasmette mediante inalazione di secrezioni respiratorie o di contatto con fluido vescicolare.

Le vie aeree superiori rappresentano la sede d'impianto dell'infezione che poi diffonde ai linfonodi regionali ove si ha una ulteriore amplificazione della popolazione virale; quindi viene invaso il torrente circolatorio con trasferimento dell'infezione agli organi interni (fegato, milza, reni) nonché alla cute. Dopo un periodo di incubazione di ca. 2 settimane, caratterizzato da lievi sintomi aspecifici, si ha febbre ed iniziano a presentarsi, ad ondate successive ed accompagnate da forte prurito, le manifestazioni maculo-papulari che evolvono poi in vescicole e in pustole.

Le cellule cutanee coinvolte nell'infezione appartengono agli strati germinativi e vanno incontro a degenerazioni citopatiche tipiche, con arrotondamento e picnotizzazione del nucleo, che assume aspetto a "occhio di civetta".

Durante la fase cutanea, il virus imbocca il percorso assonale e si trasferisce nei gangli presso le radici posteriori, con localizzazione prevalentemente dorsale, ove si instaura la fase di latenza che può durare tutta la vita.

La riattivazione del virus determina il percorso anterogrado del virus al dermatomero cutaneo corrispondente con la comparsa delle tipiche vescicole (Zoster). Questo evento è accompagnato da una nevrite importante e dolorosa che spesso residua anche dopo la risoluzione dell'episodio (nevralgia post-erpetica). Tutto questo ha una evoluzione temporale più o meno prolungata in funzione dei concomitanti livelli dell'immunità cellulo-mediata.

N.B. L'immunità conferita dall'infezione primaria è duratura e protegge dalla reinfezione, ma non dalle riattivazioni.

Lo zoster è una manifestazione tipica dell'età adulta ma può interessare età più precoci quando vi siano cause infettive o iatrogene di deficit dell'immunità cellulare (AIDS, trapianti, terapie citostatiche).

L'infezione da VZV può essere trasmessa verticalmente durante la fase viremica materna secondo le seguenti modalità:

1. Raro è il passaggio transplacentare durante la gravidanza (varicella congenita);
2. Più comune è il passaggio del virus al neonato durante il parto. In tal caso, se l'infezione materna è di molto antecedente il parto, cioè se è ragionevole pensare ad un trasferimento di immunità passiva al neonato, non si interviene, altrimenti è necessario trattare il neonato con VZlg e aciclovir per scongiurare una forma di varicella grave. In realtà la gestione di questi casi è più complessa e non c'è ancora un comportamento terapeutico univoco.

VIRUS VARICELLA-ZOSTER (VZV)

**Famiglia Herpesviridae
Sottofamiglia Alphaherpesviridae
DNA a doppia elica**

La varicella è una malattia esantematica causata dall'infezione primaria da VZV. Una volta esaurito l'episodio acuto, VZV persiste in stato di latenza in uno o più gangli dei nervi sensitivi. La riattivazione di VZV può causare lo zoster e sembra avvenire a seguito di un calo della risposta cellulare cellulo-mediata.

EPIDEMIOLOGIA

Nei paesi a clima temperato, il picco di sieroprevalenza si ha nell'adolescenza e la maggior parte delle infezioni primarie avviene prima dei 10 anni di età. Negli USA e in alcuni paesi Europei dopo i 15 anni meno del 10% degli individui è suscettibile alla varicella.

Nei paesi a clima tropicale il picco di sieroprevalenza viene raggiunto negli adulti con età superiore ai 40 anni, l'età media di infezione è superiore ai 20 anni e la sieroprevalenza in individui con più di 15 anni è molto più bassa (41-72%) rispetto ai climi temperati.

Ne consegue un ALTO RISCHIO DI CONTRARRE INFEZIONE PRIMARIA in adulti provenienti da paesi a bassa endemia che emigrano in paesi ad alta endemia.

L'incidenza di infezioni da VZV nelle gravide nel Nord America è di ca. il 6%, anche se solo lo 0.05-0.07% presenta complicazioni conseguenti all'infezione.

In Gran Bretagna il rischio di varicella è pari allo 0.3% di tutte le gestazioni.

In altri paesi europei il 95% della popolazione adulto è immune nei confronti di VZV, pertanto l'incidenza di varicella in gravidanza risulta molto bassa (0.7/1000).

Tuttavia, poiché l'età media della prima infezione si sta elevando, si osserva un aumento di incidenza nell'età adulta e quindi anche in gravidanza.

PATOGENESI DELL'INFEZIONE DA VZV IN RELAZIONE ALLO STATO GRAVIDICO

Nelle gestanti che contraggono la varicella, la maggiore complicazione è una polmonite con rischio di mortalità del 40% in assenza di terapia.

Nonostante la severità dell'infezione materna, non è stata dimostrata alcuna correlazione con una maggiore probabilità di trasmissione di virus al feto (VARICELLA CONGENITA).

L'infezione congenita viene acquisita per via diaplacentare.

Il rischio di trasmissione al feto è relativamente basso (ca. il 2%) se l'infezione materna avviene tra l'8^a e la 20^a settimana. In particolare, se l'infezione avviene nelle prime 12 settimane il rischio è dello 0.4% ed aumenta progressivamente fino al 2% quando l'infezione viene contratta entro la 20^a settimana.

Nessun caso di varicella congenita è stato segnalato in caso di infezione materna nella seconda metà della gravidanza.

Quando invece l'infezione materna avviene nelle ultime tre settimane di gravidanza o nel periodo successivo al parto, e il virus viene trasmesso o per via diaplacentare o più raramente tramite le secrezioni o il liquido di vescicola, si parla di VARICELLA NEONATALE.

Nelle madri con varicella nel periodo perinatale, l'incidenza di varicella neonatale è del 48%. In tali casi, se il rash materno viene osservato prima degli ultimi 5 giorni che precedono il parto la malattia neonatale è di norma lieve; se il rash materno viene osservato negli ultimi 5 giorni che precedono il parto e fino ai due giorni dopo, la patologia neonatale è più grave e ciò avviene nel 20% dei casi (motivo: in questo caso il neonato è esposto alla viremia in assenza di IgG materne che non sono state ancora prodotte).

La riattivazione di VZV con herpes zoster materno in gravidanza non sembra associata significativamente a rischio di trasmissione al feto.

EFFETTI DELL'INFEZIONE DA VZV SUL NEONATO

In letteratura sono stati descritti solo 50 casi di Varicella Congenita con mortalità perinatale del 25% entro il primo mese di vita.

Il quadro clinico neonatale è rappresentato nel 92% dei casi dalla presenza di lesioni cutanee e a seguire dei seguenti sintomi e segni clinici:

- anormalità oculari (cataratta, corioretinite, microftalmia)	69%
- difetti neurologici	52%
- ipoplasia limbica	40%
- ritardo psicomotorio	16%
- atrofia muscolare, malformazioni delle dita, alterazioni di altri organi	16%

In caso di Varicella Neonatale l'insorgenza dei sintomi è osservata a 5-10 giorni di vita e la percentuale di mortalità è ancora molto alta (20-30%). Le lesioni cutanee possono essere anche l'unico segno della malattia, ma un peggioramento del quadro clinico si può avere con una fase di disseminazione e comparsa di polmonite, encefalite ed epatite.

DIAGNOSI DI LABORATORIO

La diagnosi è di solito clinica, ma il laboratorio è importante come approccio diagnostico di conferma.

Il virus può essere isolato da liquido di vescicola nei primi 3-4 giorni di malattia. Una tecnica rapida e alternativa all'isolamento è la ricerca di antigeni virus-specifici nelle cellule presenti nell'essudato delle vescicole.

Lo stato sierologico viene controllato con la ricerca di IgG e IgM VZV-specifiche, utile soprattutto nei casi dubbi. Una positività IgM in assenza o presenza di IgG è indice di infezione acuta o recente. La positività delle sole IgG è indice invece di infezione pregressa. Attenzione ai casi di bassi livelli di IgG in quanto potrebbe aversi reinfezione asintomatica di varicella.

I kit ELISA in commercio possono presentare reattività crociata con HSV e CMV. Nuovi kit in sviluppo usano gE, gB e gH di VZV e sono più sensibili e specifici.

DIAGNOSI PRENATALE

La ricerca di VZV nel liquido amniotico (LA) o delle IgM nel sangue fetale NON CONSENTE di predire il danno fetale o neonatale.

Il rischio di aborto per amniocentesi o funicolocentesi eseguite dopo la 17^a settimana di gestazione è maggiore del rischio di varicella congenita, per cui non è consigliata una diagnosi prenatale invasiva.

Utile risulta invece una diagnosi prenatale non-invasiva condotta con una ecografia fetale tra la 19^a e la 24^a settimana, per evidenziare eventuali malformazioni fetali. Se questa risulta positiva si consiglia esame invasivo con ricerca di DNA virale nel LA e ricerca delle IgM specifiche nel sangue fetale.

PROFILASSI E TERAPIA

Donne in età fertile non immuni per VZV

Un vaccino con virus attenuato offre la possibilità di una profilassi pre-esposizione. Il vaccino commercializzato negli USA, Giappone e Corea, è stato ottenuto con il ceppo OKA e sembra essere sicuro ed efficace. Attualmente non è commercializzato in Europa. In caso di somministrazione del vaccino deve essere evitata la gravidanza per almeno 1 mese dopo ogni dose anche se non se ne conoscono gli effetti sul feto.

Donne in gravidanza venute a contatto con persone affette da VZV

Valutare innanzitutto se il contatto era effettivamente a rischio e se la donna aveva già contratto l'infezione e, in caso dubbio, partire con la sierologia.

Se la gravida è sieronegativa e l'infezione possa essere avvenuta entro la 20^a settimana, viene consigliata la somministrazione di Ig iperimmuni specifiche (N.B. l'efficacia di queste negli adulti è solo del 70% e non sono noti gli effetti sulla riduzione dell'incidenza di Varicella Congenita). L'uso dei farmaci antivirali è in fase di valutazione.

Donne in gravidanza che sviluppano varicella

La raccomandazione per una terapia con aciclovir varia nei vari paesi. In Gran Bretagna ed in Australia l'aciclovir per os (800 mg/5 volte al giorno per 7 giorni) viene offerto alle gravide dopo la 20^a settimana

gestazionale ed entro le 24 ore dall'inizio del rash per ridurre le complicanze associate a varicella in gravidanza. Sebbene non siano mai stati effettuati studi prospettici, studi retrospettivi hanno mostrato una riduzione della morbilità e mortalità durante almeno i primi due trimestri di gravidanza.

In caso di polmonite da VZV nella madre viene consigliata la somministrazione endovena di aciclovir (10 mg/kg ogni 8 ore per 7 giorni).

Donne in gravidanza che sviluppano zoster

Non viene consigliato alcun trattamento.

CONCLUSIONI

L'aumento dell'età media di prima infezione da VZV registrato nei paesi a clima temperato ha portato e porterà nel tempo un aumento nell'incidenza delle infezioni primarie da VZV in gravidanza.

I descritti rischi di Varicella Congenita (2%) e di Varicella Neonatale (48%) potrebbero pertanto subire incremento.

E' auspicabile che in Italia vengano ufficializzati e diffusi protocolli di profilassi vaccinale e linee guida per l'uso di antivirali nei casi specifici.